



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO  
TERAPÊUTICA (PPGIT)



EMERSON DE OLIVEIRA SILVA

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS A  
PARTIR DA ACEROLA LIOFILIZADA**

RECIFE

2020

EMERSON DE OLIVEIRA SILVA

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS A  
PARTIR DA ACEROLA LIOFILIZADA**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós em Inovação Terapêutica, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica.

**Área de concentração:** Fármacos, Medicamentos e Insumos Essenciais para a Saúde

**Orientador:** Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE

2020

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Silva, Emerson de Oliveira

Desenvolvimento tecnológico de comprimidos mastigáveis a partir da acerola liofilizada / Emerson de Oliveira Silva. - 2020.

120 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, Recife, 2020.

Inclui referências e apêndices.

1. Farmacologia. 2. Acerola. 3. Vitamina C. 4. Vitaminas – Uso terapêutico. I. Rolim Neto, Pedro José (orientador). II. Título.

615.1

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021 -269

EMERSON DE OLIVEIRA SILVA

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS A  
PARTIR DA ACEROLA LIOFILIZADA**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós em Inovação Terapêutica, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica.

Aprovado em: 26/11/2020.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Paulo César Dantas da Silva  
Universidade Estadual da Paraíba

---

Dr. Marcelo Montenegro Rabello  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Membro Suplente)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr<sup>a</sup>. Magda Rhayanny Assunção Ferreira (Membro Suplente)  
Universidade Federal de Pernambuco

*Dedico aos meus pais, meus avós e toda a  
minha família que é a minha base e minha  
motivação de todos os dias.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido mais esta oportunidade tão importante para o meu crescimento pessoal e profissional. Obrigado por ter me capacitado e por não ter me deixado desistir, mesmo com todas as minhas limitações, **sempre estás comigo**.

Agradeço também a toda a minha família por todo apoio e incentivo que tem me dado. Em especial, aos meus pais (Edson e Eliane), meus avós (Seu Benedito e Dona Severina), meus dois grandes irmãos (Wesley e Quinho) e meus tios, em especial, tia Edilene, que é como minha segunda mãe. Amo todos vocês e espero muito que eu esteja orgulhando a todos.

Aos meus ótimos amigos que estão sempre ao meu lado tornando o peso dessa vida cada vez mais leve (Lili, Miryan, João, Maria Eduarda, Júnior, Ceça). Obrigado por todos os momentos divertidos, pelo companheirismo e pelas muitas risadas.

Meu muito obrigado ao Professor Pedro, meu orientador, incentivador e amigo, por ter me aceitado como orientando, por ter me dado todo o suporte necessário para o meu crescimento acadêmico, por estar sempre me encorajando e acreditando na minha evolução. Espero estar contribuindo para o crescimento do LTM, da mesma forma que o próprio LTM está me fazendo crescer tanto.

Agradeço as meninas do grupo de pesquisa da acerola (Debora, Alessandra, Lilian e Lavinya), por toda ajuda e empenho em levar esse belo trabalho adiante. Obrigado meninas por sempre terem me tratado muito bem e pela disposição em colocar esse projeto para frente. O nosso trabalho está ficando cada vez mais lindo e lapidado.

Aos meus amigos do LTM, por todo conselho, ensinamento e ajuda no decorrer do meu tempo de pesquisa no laboratório: Victor, Camila, Myla, Widison, Maria Clara, Larissa Morgana, Manu, Rafael, Taysa, Williana, Stefani, André, Natália, Aline, Matheus e vários outros.

Às professoras Larissa Rolim e Rosali Silva, pelo apoio e por sempre estarem disponíveis para ajudar todo aluno do LTM.

Aos integrantes da minha banca avaliadora (Paulo Dantas, Marcelo Montenegro, Magda Rhayanny e Professor Lamartine) pela disponibilidade e contribuições. Em especial agradeço muito a Paulo Dantas, por todo o ensinamento, orientação e sempre boas risadas, você é uma das minhas principais referências como acadêmico e profissional.

Às indústrias, laboratórios, professores e técnicos parceiros do LTM, como a Niagro, a Lapon, o CETENE, o Laboratório de Proteínas, o NUDATEF e ao departamento de nutrição da UFPE pela estrutura e todo apoio que foi essencial para essa pesquisa.

Agradeço ao PPGIT, em especial ao secretário Paulo, pela disponibilidade e todo o suporte dado.

Agradeço a todos àqueles que não foram citados, mas que ajudaram de maneira direta ou indireta para a finalização desse trabalho.

## RESUMO

Acerola é uma fruta de clima tropical considerada um dos alimentos funcionais mais populares do mundo por ser uma das principais fontes naturais de vitamina C e outros compostos corresponsáveis pelas atividades funcionais relatadas para o fruto da acerola, inclusive no seu resíduo agroindustrial: o bagaço. Contudo, o fruto da acerola se deteriora rapidamente devido ao seu alto teor de umidade, limitando sua comercialização e utilização, sendo necessário o emprego de técnicas de processamento para prolongar seu período de conservação. A secagem por liofilização permite a desidratação do produto alimentício sem expor o mesmo à altas temperaturas, proporcionando uma maior preservação de sua qualidade nutricional, das características sensoriais, além de possibilitar a sua utilização em formas nutracêuticas estabilizadas. Este trabalho visa o desenvolvimento de comprimidos mastigáveis utilizando a polpa da acerola liofilizada. Experimentalmente, foi avaliada a influência dos parâmetros: concentração de sólidos solúveis nas amostras das polpas (°Brix), tipo de congelamento das polpas (ultrafreezer, refrigerador e nitrogênio líquido) e o tempo de secagem (24 e 48 horas) sobre as características dos líofilos obtidos. O bagaço foi pulverizado e caracterizado para a investigação do seu uso como adjuvante de secagem. O líofilo com as melhores características físico-químicas foi utilizado como insumo ativo para a obtenção da formulação do comprimido mastigável. Através das análises dos ciclos de liofilização, os líofilos derivados da polpa de Brix 21,61° que foi congelada em ultrafreezer e nitrogênio e liofilizadas no período de 48 horas, e os líofilos obtidos da polpa de Brix 50,5° obtidos nas mesmas condições experimentais, mas com o acréscimo de 20% do bagaço, apresentaram os melhores desempenho em termos de rendimento (>40%), baixo teor de umidade e atividade de água. As amostras contendo o pó do bagaço da acerola resultaram em líofilos menos higroscópicos e mais estáveis ao longo do tempo, legitimando o uso do bagaço como um possível adjuvante de secagem. O teor de vitamina C dos líofilos derivados da polpa de 21,61° foi de 16,5g/100g, já os da polpa de 50,5° obtidos com 20% (p/p) do pó do bagaço da acerola foi de 20,9g/100g. O líofilo obtido a partir da polpa de Brix 21,61° com congelamento prévio em ultrafreezer apresentou as melhores características físico-químicas e de processamento para a utilização na obtenção do comprimido mastigável, que também contou com a presença do bagaço da acerola em sua composição como um adjuvante farmacêutico. A ingestão do comprimido mastigável de acerola liofilizada obtido nesse estudo representa o fornecimento do triplo da quantidade diária recomendada de vitamina C preconizada por legislação aqui no Brasil. Os valores apresentados legitimam o potencial uso

dos pós liofilizados da acerola para a aplicação no desenvolvimento de formas nutracêuticas sólidas alternativas para a administração da vitamina C.

Palavras-chave: Acerola. Vitamina C. Liofilização. Resíduo agroindustrial. Adjuvante de secagem

## ABSTRACT

Acerola is a tropical fruit considered one of the most popular functional foods in the world as it is one of the main natural sources of vitamin C and other co-responsible compounds for its functional activities reported for the acerola fruit, including its agro-industrial residue: bagasse. However, the acerola fruit deteriorates rapidly due to its high moisture content, limiting its commercialization and utilization, requiring the use of processing techniques to prolong its conservation period. Freeze drying enables this food product to be dehydrated without exposing it to high temperatures, providing greater preservation of its nutritional quality and sensory characteristics, and thus enabling its use in stabilized nutraceutical forms. In that context, this work aims at developing chewable tablets using the freeze-dried acerola pulp. Experimentally, the influence of the parameters was evaluated: concentration of soluble solids in the pulp samples ( $^{\circ}$ Brix), type of pulp freezing (ultrafreezer, refrigerator, and liquid nitrogen), and the drying time (24 and 48 hours) on the characteristics of the obtained lyophiles. The bagasse was pulverized and characterized to investigate its use as a drying aid. The lyophile with the best physicochemical characteristics was used as an active ingredient to obtain the chewable tablet formulation. Through the analysis of the freeze drying cycles, the lyophiles derived from the Brix pulp  $21.61^{\circ}$  was frozen in ultrafreezer and liquid nitrogen, followed by freeze drying within 48 hours, and the obtained lyophiles from the Brix pulp  $50.5^{\circ}$  under the same experimental conditions, but with the addition of 20% of the bagasse, presented the best performance in terms of yield ( $> 40\%$ ), low moisture content and water activity. Samples containing acerola bagasse powder resulted in less hygroscopic and more stable lyophiles over the time, legitimizing the use of bagasse as a possible drying aid. The vitamin C content of the lyophiles derived from the  $21.61^{\circ}$  pulp was  $16.5\text{g}/100\text{g}$ , while those from the  $50.5^{\circ}$  pulp obtained with 20% (w/w) of the acerola bagasse powder was  $20,9\text{g}/100\text{g}$ . The lyophil obtained from the Brix pulp  $21.61^{\circ}$  with previous freezing in an ultra-freezer presented the best physical-chemical and processing characteristics for use in obtaining the chewable tablet, which also included the presence of acerola bagasse in its composition as a pharmaceutical adjuvant. The ingestion of the chewable freeze-dried acerola tablet obtained in this study represents a supply three times greater than the recommended daily amount of vitamin C, according to Brazilian legislation. The presented values legitimize the potential use of freeze-dried powders of acerola for application in the development of alternative solid nutraceutical forms for the administration of vitamin C.

Keywords: Acerola. Vitamin C. Lyophilization. Agro-industrial waste. Drying aid.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fruto da acerola em seu estado maduro.....	27
Figura 2 - Corte longitudinal do fruto da acerola para a visualização da semente.....	32
Figura 3 - Estrutura química da vitamina C (L-ácido ascórbico) e seus principais derivados químicos presentes no organismo humano.....	35
Figura 4 - Polpas devidamente armazenadas recebidas para o prosseguimento da pesquisa...	45
Figura 5 - Fluxograma de obtenção das polpas de acerola.....	46
Figura 6 - Fluxograma ilustrativo da metodologia de doseamento da vitamina C pelo método titulométrico invertido de Tillmans. ....	50
Figura 7 - Fluxograma ilustrativo da metodologia da secagem por liofilização e as variáveis do processo que foram avaliadas. ....	52
Figura 8 - Fluxograma referente a obtenção do resíduo da acerola (bagaço) na forma íntegra e triturado. ....	57
Figura 9 - Análise macroscópica das amostras de extrato da acerola (Brix 7,12°) submetidas a liofilização em diferentes tempos de secagem. ....	71
Figura 10 - Análise macroscópica das amostras de extrato da acerola (Brix 21,61°) submetidas a liofilização em diferentes tempos de secagem.....	72
Figura 11 - Análise macroscópica das amostras de extrato da acerola (Brix 50,5°) submetidas a liofilização em diferentes tempos de secagem . ....	75
Figura 12 - Resultado detalhado do tamanho médio dos líofilos .....	80
Figura 13 - Curvas da termogravimetria isotérmica para análise do teor de umidade dos líofilos. ....	84
Figura 14 - Fotomicrografias dos escolhidos melhores líofilos da acerola. ....	85
Figura 15 - Representação das placas de CCD após a eluição para análise da presença dos metabólitos pesquisados para o líofilo da acerola. ....	87

Figura 16 - Pó do bagaço da acerola obtido pelo uso do moinho de facas.....	89
Figura 17 - Curva isotérmica obtida por termogravimetria (TG) para análise do teor de umidade do pó da acerola.....	92
Figura 18 - Distribuição granulométrica do pó da acerola .....	94
Figura 19 - Microscopia eletrônica de varredura do pó do bagaço da acerola.....	96
Figura 20 - Comprimidos mastigáveis contendo o liófilo da polpa da acerola e seu resíduo agroindustrial.....	97

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional da acerola em seu estado maduro (100 g de fruta).....	29
Tabela 2 - Diferentes propriedades biofuncionais da acerola.....	30
Tabela 3 - Condições experimentais para avaliação dos efeitos do tipo de congelamento utilizado para as amostras e o tempo de processo de secagem por liofilização da polpa da acerola.....	52
Tabela 4 - Padrões químicos, sistemas eluentes e agentes cromogênicos utilizados na triagem fitoquímica do líofilo da acerola.....	55
Tabela 5 - Composição quali-quantitativa do protótipo do comprimido mastigável contendo o líofilo e o bagaço da acerola. ....	60
Tabela 6 - Características das polpas recebidas.....	65
Tabela 7 - Características físico-químicas das polpas da acerola com diferentes °Brix.....	66
Tabela 8 - Resultados dos ciclos de secagem por liofilização das amostras das diferentes polpas da acerola.....	70
Tabela 9 - Resultados dos ciclos de secagem por liofilização das amostras das polpas de Brix 50,5° com adição do bagaço da acerola.....	74
Tabela 10 – Resultado do tamanho médio de partícula dos diferentes líofilos.....	78
Tabela 11 - Resultado do rendimento da secagem por liofilização, dos valores de teor de umidade obtidos em estufa e termogravimetria (TG) e da atividade de água dos melhores líofilos.....	83
Tabela 12- Análises cromatográficas, por CCD, do líofilo da acerola.....	86
Tabela 13- Composição centesimal do pó do bagaço da acerola.....	90
Tabela 14 - Valores de teor de umidade obtidos por perda por dessecação utilizando estufa e termogravimetria (TG).....	92

Tabela 15 - Porcentagens de retenção de do pó da acerola .....	93
Tabela 16 - Análise do comportamento reológico do pó do bagaço da acerola .....	95
Tabela 17 - Análise físico-química preliminar dos comprimidos mastigáveis .....	98

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC	<i>Official Methods of Analysis</i>
AT	Acidez titulável
CCD	Cromatografia em camada delgada
DCFI	2,6-diclorofenol-indofenol
EROS	Espécies reativas de oxigênio
GLDH	L-galacto-1,4-lactona desidrogenase
GLUT	Transportador de glicose
GULO	L-gulono-1,4-lactona oxidase
IN	Instrução Normativa
Ltda	Sociedade de responsabilidade limitada
LTM	Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
LIKA	Laboratório de imunopatologia Keizo Asami
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NAR	Necessidades alimentares recomendadas
pH	Potencial hidrogeniônico
RDC	Resolução da diretoria colegiada
Rf	Fator de retenção
TGA	Termogravimetria
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

Vit C

Vitamina C

## LISTA DE SÍMBOLOS

g	Gramma
%	Por cento
cm	Centímetro
°C	Grau Celsius
T	Tonelada
mg	Miligrama
nmol	Nanomolar
n°	Número
°Bx	Grau Brix (sólidos solúveis)
N	Normalidade
mL	Mililitro
®	Marca registrada
±	Mais ou menos (variação)
p/p	Relação peso/peso
mL.min <sup>-1</sup>	Mililitros por minuto
°C.min <sup>-1</sup>	Graus Celsius por minuto
Δ	Aquecimento
nm	nanômetros
g.min <sup>-1</sup>	Gramas por minuto
Rpm	Rotações por minuto

>	Maior que
$\text{g} \cdot 100^{-1}$	Gramas por 100 gramas
$\text{g/mL}$	Gramas por mililitro
$\text{mgAA}/100\text{g}$	Miligramas de ácido ascórbico por 100 gramas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>23</b>
1.1	OBJETIVOS.....	25
1.1.1	Objetivo geral.....	25
1.1.2	Objetivos Específicos.....	25
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>27</b>
2.1	ACEROLA .....	27
2.1.1	Produção e mercado .....	28
2.1.2	Aspectos nutricionais e fitofarmacologia.....	28
2.1.3	Propriedades farmacológicas.....	30
2.1.4	Bagaço da acerola: potencial resíduo reaproveitável.....	32
2.2	VITAMINA C .....	33
2.2.1	Aspectos químicos, biogênese e propriedades.....	34
2.3	LIOFILIZAÇÃO .....	37
2.3.1	Adjuvantes tecnológicos utilizados na secagem por liofilização.....	40
2.4	FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS .....	40
2.4.1	Comprimidos mastigáveis.....	42
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>45</b>
3.1	MATERIAIS .....	45
3.1.1	Obtenção da polpa da acerola .....	45
3.1.2	Bagaço da acerola .....	46
3.2	LOCAL DE REALIZAÇÃO .....	46
3.3	METODOLOGIAS .....	47
3.3.1	Controles de qualidade físico-químico das polpas <i>in natura</i> .....	47
3.3.1.1	Acidez titulável.....	47
3.3.1.2	pH .....	47
3.3.1.3	Sólidos solúveis ( <i>Brix</i> ).....	48
3.3.1.4	Sólidos totais ( <i>ST</i> ).....	48
3.3.1.5	Teor de cinzas .....	48
3.3.1.6	Densidade relativa.....	48
3.3.1.7	Resíduo seco .....	49
3.3.1.8	Doseamento da vitamina C.....	49
3.3.2	Processo de secagem das polpas da acerola pelo método da liofilização .....	50
3.3.2.1	Preparação das amostras, condições de congelamento e tempo de liofilização .....	51
3.3.3	Caracterização físico-química dos líofilos .....	53
3.3.3.1	Avaliação macroscópica dos líofilos .....	53
3.3.3.2	Teor de Umidade através da perda por dessecação .....	53
3.3.3.3	Teor de Umidade através da termogravimetria ( <i>TG</i> ).....	54

3.3.3.4	<i>Atividade de água</i> .....	54
3.3.3.5	<i>Prospecção fitoquímica (Triagem fitoquímica qualitativa)</i> .....	54
3.3.3.6	<i>Tamanho de partícula por granulometria à laser</i> .....	55
3.3.3.7	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i> .....	56
3.3.3.8	<i>Doseamento da vitamina C</i> .....	56
<b>3.3.4</b>	<b>Obtenção e preparo da amostra do bagaço da acerola</b> .....	<b>56</b>
3.3.4.1	<i>Obtenção da farinha do bagaço da acerola</i> .....	57
<b>3.3.5</b>	<b>Determinações analíticas dos parâmetros físico-químicos da farinha do bagaço da acerola</b> .....	<b>57</b>
3.3.5.1	<i>pH</i> .....	57
3.3.5.2	<i>Acidez titulável</i> .....	58
3.3.5.3	<i>Atividade de água</i> .....	58
3.3.5.4	<i>Teor de umidade por perda por dessecação</i> .....	58
3.3.5.5	<i>Teor de umidade por termogravimetria (TG)</i> .....	58
3.3.5.6	<i>Teor de cinzas</i> .....	58
3.3.5.7	<i>Distribuição granulométrica por tamisação</i> .....	58
3.3.5.8	<i>Densidade compactada e aparente</i> .....	59
3.3.5.9	<i>Caracterização do fluxo de pós: ângulo de repouso, tempo de escoamento, índice de Carr (IC) e fator de Hausner (FH)</i> .....	59
3.3.5.10	<i>Molhabilidade</i> .....	60
3.3.5.11	<i>Solubilidade</i> .....	60
3.3.5.12	<i>Higroscopicidade</i> .....	61
3.3.5.13	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i> .....	61
<b>3.3.6</b>	<b>Desenvolvimento farmacotécnico preliminar do comprimido mastigável e seu controle de qualidade</b> .....	<b>61</b>
3.3.6.1	<i>Determinação do peso médio</i> .....	62
3.3.6.2	<i>Determinação da resistência mecânica: teste de dureza</i> .....	62
3.3.6.3	<i>Determinação da resistência mecânica por desgaste: teste de friabilidade</i> .....	63
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>65</b>
4.1	<b>CARACTERIZAÇÃO DAS POLPAS DA ACEROLA</b> .....	<b>65</b>
4.1.1	<b>Caracterização físico-química</b> .....	<b>65</b>
4.2	<b>ESTUDOS DA SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO DE DIFERENTES POLPAS DA ACEROLA E CARACTERIZAÇÕES DOS LIÓFILOS</b> .....	<b>69</b>
4.2.1	<b>Influência da concentração de sólidos solúveis na aparência do produto submetido a liofilização</b> .....	<b>69</b>
4.2.2	<b>Influência da concentração de sólidos solúveis e do método de congelamento no tamanho de partícula do líofilo</b> .....	<b>77</b>
4.2.3	<b>Influência do tempo de secagem e do método de congelamento no teor de umidade residual e atividade de água (aw) presente nos líofilos</b> .....	<b>81</b>
4.2.4	<b>Microscopia eletrônica de varredura</b> .....	<b>84</b>
4.2.5	<b>Prospecção fitoquímica (Triagem fitoquímica)</b> .....	<b>86</b>
4.2.6	<b>Teor de vitamina C</b> .....	<b>88</b>
4.3	<b>CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BAGAÇO DA ACEROLA</b> .....	<b>89</b>
4.3.1	<b>Determinação comparativa do teor de umidade</b> .....	<b>91</b>
4.3.2	<b>Distribuição granulométrica e tamanho de partícula por granulometria à laser</b> .....	<b>93</b>

<b>4.3.3</b>	<b>Comportamento reológico .....</b>	<b>94</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....</b>	<b>95</b>
<b>4.4</b>	<b>DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DOS COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS OBTIDOS.....</b>	<b>96</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>101</b>
<b>6</b>	<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>103</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>105</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>117</b>
	<b>APÊNDICE A - COMPROVANTE DE CADASTRO NO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO.....</b>	<b>118</b>
	<b>APÊNDICE B – COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DE PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PIBIC/PROPESQ).....</b>	<b>119</b>
	<b>APÊNDICE C – RESUMO SIMPLES SUBMETIDO NO I CONGRESSO INTERNACIONAL DE PRODUTOS NATURAIS.....</b>	<b>120</b>

# INTRODUÇÃO

# 1 INTRODUÇÃO

Acerola ou cereja das Antilhas são os nomes comuns para a o gênero *Malpighia emarginata* DC, fruta nativa da América Central e norte da América do Sul que foi gradualmente disseminada e cultivada principalmente em países de clima tropical e subtropical pela sua perfeita adaptação a esses tipos de clima (MOURA et al., 2018; RITZINGER; RITZINGER, 2011).

O Brasil é considerado o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola, sendo o estado de Pernambuco, o maior produtor nacional da acerola e derivados. O fruto da acerola é considerado um dos alimentos funcionais mais populares do mundo por ser uma das fontes naturais mais ricas em ácido ascórbico (vitamina C). Além do alto teor de vitamina C, o a acerola apresenta outros importantes macro e micronutrientes destacando seu alto valor nutritivo, além de uma complexa composição fitofarmacológica de compostos polifenólicos responsáveis pelas diversas atividades funcionais relatadas na literatura para as diversas partes da planta acerola, inclusive no bagaço e na semente, materiais considerados como resíduos agroindustriais (MORAES et al., 2017; PRAKASH; BASKARAN, 2018).

A vitamina C é o principal biomarcador funcional da acerola. O teor dessa vitamina no fruto de acerola varia nos diferentes estágios de amadurecimento do fruto, o seu local de cultivo e diferentes fatores ambientais. Em frutos imaturos, a quantidade de vitamina C pode superar valores de 1,9 g/100 g de suco de acerola, que durante o amadurecimento, esses valores diminuem para cerca de 0,97 g/100 g de suco devido a oxidação da vitamina C (BELWAL et al., 2018). A rica composição em termos de vitamina C, compostos fenólicos bioativos e carotenóides atribui a acerola atividade antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, imunomoduladora positiva e adjuvante para a redução do risco de doenças crônicas, o que justifica o seu uso na composição de alimentos processados e em produtos nutracêuticos (DELVA; SCHNEIDER, 2013).

Infelizmente, o fruto da acerola se deteriora rapidamente devido ao seu alto teor de umidade, o que causa a perda de suas propriedades funcionais e organolépticas, limitando sua comercialização e utilização. Portanto, processos tecnológicos devem ser aplicados com o objetivo de prolongar o tempo de vida útil do fruto da acerola, facilitando seu armazenamento e sua utilização no processamento industrial, com a garantia da preservação do sabor, aroma e das propriedades funcionais do fruto (ARAÚJO et al., 2015; OYINLOYE; YOON et al., 2020)

Dentre as alternativas de conservação, os métodos da secagem com sucesso prolongam a vida de prateleira de frutos através da redução da atividade de água, que conseqüentemente, resulta na inibição do crescimento microbiano e redução da atividade enzimática. A secagem representa uma alternativa eficiente de oferecer um produto derivado com atributos mais convenientes tanto para a indústria, ao se deparar com um material mais facilmente manuseável, quanto para o consumidor. Portanto, a secagem com a aplicação de calor, ou pela remoção de água sem aquecimento (liofilização) permitem processar a fruta *in natura* na forma seca (KAWASAKI; SHIMANOUCI; KIMURA, 2019; MORAES et al., 2017;).

Especificamente, a liofilização permite a desidratação do produto alimentício sem expor o mesmo à altas temperaturas, proporcionando uma maior preservação da qualidade nutricional e das características sensoriais. A técnica consiste na retirada da água contida no produto pelo fenômeno da sublimação, através do congelamento prévio do produto (KASPER; FRIESS, 2011). Trata-se de uma técnica consolidada na indústria farmacêutica principalmente para a desidratação de materiais termossensíveis, como é caso do fruto da acerola. A liofilização se destaca também pela sua possibilidade para transposição de escala (CIURZYNSKA; LENART, 2011; ZHU et al., 2018).

O alimento desidratado por liofilização pode ser veiculado principalmente em formas farmacêuticas sólidas estáveis com uma dose mais precisa. Essas formas sólidas são produzidas em massa de uma forma mais rápida e econômica pela indústria farmacêutica, além de serem reconhecidas como as formas mais convenientes para a população (RAUTAMO et al., 2020). Particularmente, os comprimidos mastigáveis são formas farmacêuticas sólidas que desintegram completamente quando entram em contato com o líquido salivar sobretudo devido a pressão mecânica fornecida pela mastigação na boca, favorecendo assim a dissolução dos componentes da formulação sólida (ALDERBORN, 2016; RENU et al., 2015).

O alimento desidratado pelo processo de secagem por liofilização, além de preservar um grande teor de seus compostos bioativos, resulta em um produto mais estável a longo prazo, e mais viável para ser incluso em novas formas nutracêuticas com uma dose mais precisa (MORAES et al., 2017; ZHU et al., 2018). Diante dos benefícios econômicos e nutritivos da acerola, principalmente com relação ao seu elevado teor de vitamina C, essa pesquisa pretende usar a totalidade do fruto da acerola para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida mastigável inovadora como uma alternativa nutracêutica. Isso será possível pelo uso da secagem por liofilização para a desidratação da polpa da acerola, visando a produção de um comprimido que irá reproduzir as características organolépticas e físico-químicas originais do fruto.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Desenvolver um comprimido mastigável utilizando como matéria-prima a polpa da acerola liofilizada com o teor nutricional similar ao da fruta *in natura*.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar as diferentes polpas da acerola *in natura*, através de análises sensoriais e físico-químicas;
- Otimizar o método de secagem através do estudo da influência de suas principais variáveis operacionais;
- Realizar as caracterizações físico-químicas das polpas da acerola submetidas ao processo de secagem por liofilização;
- Analisar e selecionar as melhores condições de secagem com base nas características físico-químicas das polpas liofilizadas;
- Fazer a moagem do bagaço da acerola e suas devidas caracterizações com o objetivo de sua utilização como adjuvante de secagem.
- Efetuar o delineamento farmacotécnico preliminar do comprimido mastigável e o seu controle de qualidade.

# **REFERENCIAL TEÓRICO**

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 ACEROLA

A acerola é uma fruta de regiões tropicais com origem nas Antilhas, na América Central, e do norte da América do Sul. Chegou ao Brasil na década de 50 e, em meados de 1955, foi introduzida em Pernambuco no campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela professora Maria Celene Ferreira Cardoso de Almeda. Pertencente à família Malpighiaceae, a planta era conhecida pelos sinônimos *Malpighia glabra* L. e *Malpighia puniceifolia* L., mas recentes trabalhos taxonômicos resultaram na aceitação de *Malpighia emarginata* DC como o nome científico atual para esta planta. O fruto é produzido por um arbusto medindo pouco mais de 2 metros de altura e que se apresenta bastante ramificado. Também conhecida como cereja das Antilhas, cereja das Índias Ocidentais, cereja dos Barbados, dependendo do país onde é cultivada (PRAKASH; BASKARAN, 2018; SHINOHARA et al., 2015).

Em seu estado amadurecido (figura 1), apresenta um epicarpo (casca externa) fino, um mesocarpo (polpa) carnoso e suculento que representa 70% a 80% do peso total do fruto e endocarpo constituído de três caroços triangulares, alongados. A forma do fruto pode ser redonda, achatada ou oval, possuindo peso médio variando entre 2 a 15g. A superfície do fruto pode ser lisa, podendo apresentar, entre os carpelos, sulcos rasos ou fundos. A coloração da casca de acordo com seu estado de maturação, passando do verde ao amarelo, laranja, vermelho ou roxo. Apresenta um sabor agridoce, podendo medir de 1 a 3 cm de diâmetro apresentando sendo fonte de ferro, cálcio, tiamina, vitamina A e elevado teor de vitamina C (MOHAMMED, 2011; MOURA et al., 2018).

**Figura 1** – Fruto da acerola em seu estado maduro.



**Fonte:** Imagens Google.

### **2.1.1 Produção e mercado**

A aceroleira é uma planta típica de regiões de clima tropical e subtropical, que necessita de temperaturas entre 15°C e 32°C, solo com adequada disponibilidade de água para crescimento e reprodução, e importante insolação que influencia na produção de vitamina C. Essas condições estão diretamente relacionadas a qualidade dos frutos, ao teor de vitamina C e aos demais metabólitos secundários e nutrientes. Regiões que apresentam períodos de seca precisam de sistemas de irrigação para permitir o desenvolvimento e crescimento adequado, nos períodos com pouca insolação a produção de vitamina C e nutrientes é prejudicada, pois é necessário sol para o desenvolvimento dela (FREITAS et al., 2006; RITZINGER; RITZINGER, 2011; SEBRAE. 2016).

No Brasil, a partir da década de 90 a acerola passou a ganhar expressão econômica, ganhando aumento na demanda, tanto pelo mercado interno como externo, atualmente a acerola é encontrada em praticamente todo território brasileiro (PEREIRA, 2013). O Nordeste se destaca, possui 14 polos de irrigação, pois as condições locais admitem a produção de frutas durante quase todo o ano, inclusive no período em que os mercados europeu, asiático e norte-americano estão desabastecidos, entre outubro e abril. Sendo também a maior produtora, com área cultivada de 3.100 hectares, apresentando cerca de 64% da produtividade de frutos por ano (EMBRAPA, 2012).

O Brasil é considerado o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola. A comercialização de acerola no mercado interno apresenta uma distribuição de cerca de 46% à indústria de processamento e 54% ao mercado de consumo da fruta (SOUSA, 2010; EMBRAPA, 2012). Segundo o censo agro do IBGE (2017), entre os principais estados brasileiros produtores de acerola, Pernambuco produz cerca de 21.351 toneladas (T) por ano, representando a maior produção nacional; seguido pelo Ceará, com 7.578 T; Sergipe, com 5.427 T; Paraíba, com 4.925 T; Piauí, com 4.690 T; São Paulo, com 3.907 T; Pará, com 3.695 T, Paraná, com 3.286; Bahia, com 2.023 T e Espírito Santo, com 915 T.

### **2.1.2 Aspectos nutricionais e fitofarmacologia**

A acerola apresenta uma composição nutricional com macro e micronutrientes descritos na tabela 1. O seu teor nutricional está diretamente relacionado a alguns fatores como: local de cultivo; condições ambientais; práticas culturais; estágio de maturação; processamento e

armazenamento (BELWAL et al., 2018; PRAKASH; BASKARAN, 2018). Em sua composição contém minerais, açúcares, aminoácidos, lipídios, ácidos orgânicos e compostos bioativos como vitamina C e carotenoides precursores de vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, cálcio, ferro, manganês, fibra e pectinas (DELVA; SHNEIDER, 2013; FREITAS et al., 2006; MOURA et al., 2018).

Os principais açúcares encontrados na acerola são glicose, frutose e em menor grau sacarose. Os principais ácidos graxos detectados são o oleico, linoleico palmítico, esteárico e linolênico (MOURA et al., 2018). Quanto aos ácidos orgânicos, podem ser encontrados o ácido málico, ácido cítrico e tartárico. Além de um alto teor de Vitamina C que pode chegar a valores de 3,7g/100g de fruto, a acerola também contém compostos polifenólicos antioxidantes, carotenoides, antocianinas e alguns aminoácidos como prolina, alanina, ácido aspártico, serina e ácido gama aminobutírico (GABA) (ASSIS et al., 2008; BELWAL et al., 2018).

Alguns nutrientes presentes na acerola possuem atividades biológicas que reduzem o risco de muitas doenças crônicas, esses compostos são representados pelos compostos fenólicos, flavonoides, e carotenoides com quantidades razoáveis em estruturas diversas na aceroleira (FARAONI et al., 2013; PRAKASH; BASKARSAN, 2018). Os compostos fenólicos estão envolvidos com a síntese das ligninas que são comuns a todas as plantas superiores, influenciando as características organolépticas do fruto da acerola (DELVA; SCHNEIDER, 2013; MOURA et al., 2018).

As antocianinas e carotenoides estão presentes na acerola são os grandes responsáveis pela coloração do fruto e suas diferentes tonalidades, prevalecendo com a maturação do fruto e a degradação da clorofila, permitindo a síntese dos pigmentos (antocianinas e carotenoides). Ademais, os carotenoides são componentes essenciais estão nas membranas fotossintéticas das plantas (DELVA; SCHNEIDER, 2013; MUSSER et al., 2004).

**Tabela 1:** Composição nutricional da acerola em seu estado maduro (100 g de fruta).

Nutrientes	Valores	Referências
Água (%)	92.60-95.00	ARRÁZOLA et al., 2014
Proteína (%)	0.21-1.20	ARRÁZOLA et al., 2014
Gordura (%)	0.23-0.80	MEZADRI et al., 2008
Carboidratos (%)	0.43	ARRÁZOLA et al., 2014
Amido (%)	0.05-0.23	BATISTA et al., 2015
Açúcar (%)	2.75-6.03	SOUZA et al., 2014
VITAMINAS (MG/100 G)		

<b>Vitamina C</b>	862.86-1465.22	LIMA et al., 2014; SOUZA et al., 2014
<b>Vitamina B6</b>	0.009	FREITAS et al., 2006
<b>Vitamina B2</b>	0.006	FREITAS et al., 2006
<b>Vitamina B3</b>	0.40	FREITAS et al., 2006
<b>Vitamina B5</b>	0.31	FREITAS et al., 2006
<b>MINERAIS (MG/100 G)</b>		
<b>Fósforo</b>	11.0	FREITAS et al., 2006
<b>Cálcio</b>	12.0	FREITAS et al., 2006
<b>Ferro</b>	0.20	FREITAS et al., 2006
<b>Potássio</b>	146.0	FREITAS et al., 2006
<b>Magnésio</b>	18.0	FREITAS et al., 2006
<b>Sódio</b>	7.0	FREITAS et al., 2006
<b>Cinza (%)</b>	4.91-5.23	ARRÁZOLA et al., 2014; RUFINO et al., 2010
<b>Fibra (%)</b>	0.16-1.63	ARRÁZOLA et al., 2014; RUFINO et al., 2010
<b>Pectina (%)</b>	94.93-246.71	BATISTA et al., 2015
<b>Peroxidação lipídica (nmol MDA/ g)</b>	59.75-119.97	OLIVEIRA et al., 2012

**Fonte:** MOURA et al., 2018.

### 2.1.3 Propriedades farmacológicas

Acerola também possui propriedades farmacológicas como, atividade antifúngica. Possui grande quantidade antioxidante que contribui para prevenção de doenças crônicas, como hipertensão e câncer (ASSIS et al., 2008; BELWAL et al., 2018). Na tabela 2 contém algumas das atividades da acerola como, atividade hepatoprotetora, anti-carcinogênica, anti-genotoxicidade, efeito anti-hiperglicêmico, entre outros.

**Tabela 2:** Diferentes propriedades biofuncionais da acerola.

<b>Atividades biológicas</b>	<b>Extrato usado</b>	<b>Sistema modelo</b>	<b>Referências</b>
------------------------------	----------------------	-----------------------	--------------------

<b>Efeito anti-hiperglicêmico</b>	Extrato polifenólico bruto	Captação de glicose nas células Caco-2 e glicose e captação de maltose em camundongos ICR	HANAMURA et al., 2006
<b>Atividade antígeno toxicidade</b>	Polpa de acerola liofilizada diluída em água	Ensaio de cometa	NUNES et al., 2011
<b>Atividade antimicrobiana</b>	Extrato fenólico de acerola	Staphylococcus aureus	DELVA; GOODRICH; SCHNEIDER, 2013
<b>Atividade anticarcinogênica</b>	Extrato de cereja Acerola (pó seco de acerola suspensa em solução salina)	Tumorigênese pulmonar em camundongos	NAGAMINE et al., 2002
<b>Efeito hepatoprotetor</b>	Suco de Acerola	Ratos suíços fêmeas	ROCHETTE et al., 2013
<b>Efeito de clareamento da pele</b>	Extrato de polifenol bruto concentrado	Pigmentação da pele irradiada por UVB Conteúdo de melanina em células de melanoma B 16H	HANAMURA et al., 2008
<b>Efeito radioprotetor</b>	Suco de fruta	Células da medula óssea de ratos Wistar	DUSMAN et al., 2014
<b>Atividade de reversão de múltiplas drogas</b>	Extratos solventes purificados de acerola	Linfomas de camundongo-5178 células	MOTOHASHI et al., 2004
<b>Inibição de açúcar catabólico enzima</b>	Aceronidina	Alfa-glucosidase e alfa amilase ensaio de inibição	KAWAGUCHI et al., 2007

**Prevenção de hiperglicemia e dislipidemia em barragens diabéticas**

Suco de Acerola

Ratos Wistar diabéticos e não diabéticos

BARBALHO et al., 2011

**Fonte:** PRAKASH; BASKARSAN, 2018.

#### 2.1.4 Bagaço da acerola: potencial resíduo reaproveitável

O processamento da acerola gera em torno de 15 a 40% de resíduos do volume da produção, sendo estes constituídos principalmente do bagaço e sementes, ambos ilustrados na figura 2. Uma imensa quantidade de resíduos alimentícios, são fontes de substâncias de alto valor nutritivo que podem ser convertidos em produtos comerciais ou utilizados com matéria-prima para processos secundários, com o objetivo de agregar valor a esses resíduos pelo seu reaproveitamento, evitar o desperdício e contribuir com a redução da poluição (AGUIAR et al, 2010; SOUSA et al, 2011). Diversos estudos sobre a composição dos resíduos agroindustriais de frutas têm sido realizados visando seu reaproveitamento na indústria farmacêutica e alimentícia, com uso para a alimentação animal. (MARQUES, 2013; MORAES et al., 2017).

**Figura 2:** Corte longitudinal do fruto da acerola para a visualização do bagaço e das sementes.



**Fonte:** NUNES, 2007.

O bagaço da acerola como resíduo agroindustrial é uma fonte valiosa de compostos funcionais como vitamina C, antocianinas e compostos fenólicos. A farinha seca processada da

semente da acerola, possui baixo teor de água e alto teor calórico, sendo composta por lipídios, carboidratos fibras solúveis, fibras insolúveis e minerais. A farinha não possui compostos alergênicos ou tóxicos, podendo ter um grande potencial de uso na dieta humana. Além disso, possui alta absorção de água e óleo (AQUINO et al., 2010; PRAKASH; BASKARAN, 2018). Um exemplo de alternativa do aproveitamento desse resíduo é a sua utilização na forma de farinha na indústria alimentícia, como ingrediente na fabricação de bolos, biscoitos e pães, como também, na indústria de cosméticos (MARQUES, 2013; SILVA et al., 2018).

No delineamento de formas farmacêuticas, o bagaço da acerola poderia funcionar como um promissor adjuvante de formulações farmacêuticas promovendo a valorização e o fortalecimento da cadeia produtiva da acerola (AQUINO et al., 2010; MORAES et al., 2017). Dessa forma, o estudo das características reológicas do pó obtido com a moagem do bagaço, a caracterização físico-química e o conhecimento intrínseco de sua composição são necessários para a identificação e classificação de seu papel como excipiente na produção das diversas formas farmacêuticas. Os resíduos gerados durante a produção do extrato da acerola são ricos em nutrientes e possuem efeitos benéficos ao organismo (PRAKASH; BASKARAN, 2018).

## 2.2 VITAMINA C

Vitamina C (Vit C) é um termo aplicado em referência a todos os compostos com atividade biológica equivalente ao ácido ascórbico, incluindo as formas oxidadas, os isômeros, ésteres e as demais formas sintéticas. Sendo uma das mais importantes vitaminas hidrossolúveis, está presente em variadas frutas cítricas e representa uma vitamina essencial para a sobrevivência humana participando da manutenção da homeostase biológica e metabólica (SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2014)

A grande maioria dos eucariontes conseguem sintetizar de maneira endógena a Vit C. A produção é unanimidade entre os seres fotossintéticos, incluindo as algas verdes. Entre os vertebrados, anfíbios, peixes e répteis e alguns mamíferos sintetizam a vitamina normalmente. Entretanto, algumas linhagens, incluindo humanos e outros primatas, perderam a capacidade de produzir a Vit C pela inativação funcional da enzima chave para o processo de síntese. Acerola, laranja, goiaba, framboesa, tomate, couve-flor e espinafre são as principais fontes alimentícias para o fornecimento da vitamina na dieta humana (SMIRNOFF, 2018; WHEELER et al., 2015).

Sua relevância vital está no fato de ser uma vitamina multifuncional desempenhando diversas atividades bioquímicas e fisiológicas no organismo, como auxilia na absorção do ferro, neutraliza a ação dos radicais livres provenientes das reações metabólicas do organismo,

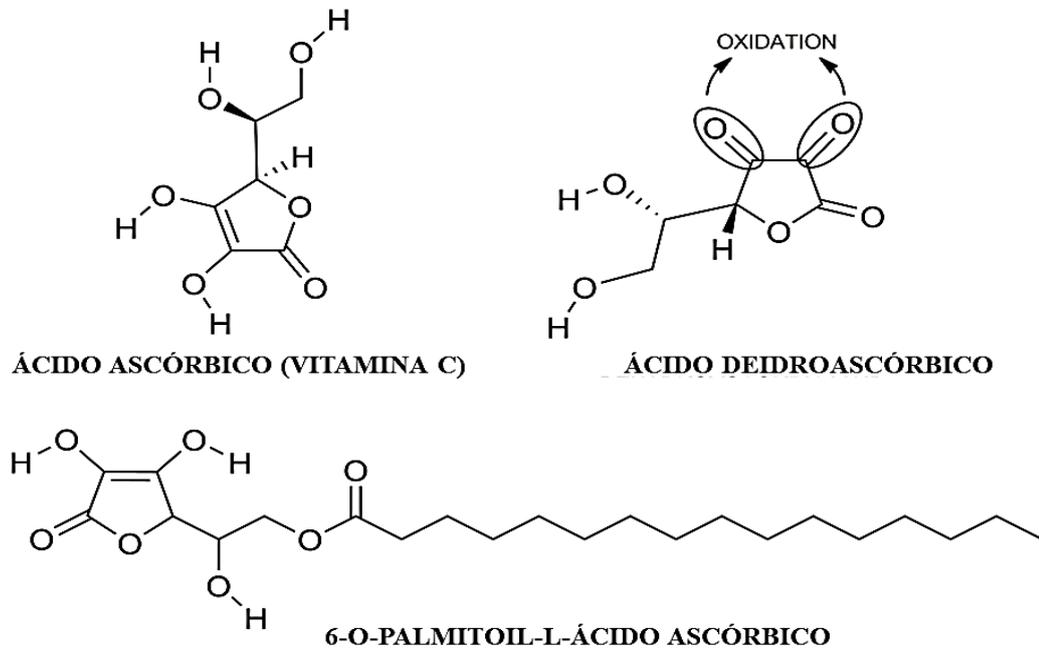
atividade imunomoduladora positiva reduzindo a suscetibilidade à infecção, auxilia na prevenção do envelhecimento precoce devido a sua atividade antioxidante, age como cofator na síntese do colágeno, hormônios e tem papel adjuvante no tratamento de em doenças cardiovasculares, arteriosclerose e câncer (DAVIS et al., 2016; LANGLOIS; LAMONTAGNE, 2019; QIN et al., 2019)

As necessidades alimentares recomendadas (NAR) para a Vit C em indivíduos saudáveis foram estabelecidas com valores de em média de 75 mg / dia para mulheres adultas e 90 mg / dia para homens. Essas recomendações variam entre os países devido aos critérios que são adotados pelas suas respectivas autoridades em saúde. No Brasil, até então a RDC n° 269, de 22 de setembro de 2005 estabelece os valores diários recomendados são de 45 mg e 35 mg para adultos e crianças, respectivamente. A recomendação da necessidade da ingestão de concentrações maiores de Vit C dependem de certos estados fisiológicos (gravidez e lactação) e da existência comorbidades que elevam o estresse oxidativo do organismo, como o tabagismo, pois conseqüentemente haverá uma maior rotatividade metabólica da vitamina antioxidante. Essa recomendação também pode variar de acordo com a indicação terapêutica pretendida com a suplementação a base de Vit C (BRASIL, 2005a; CARR; LYKKESFELDT, 2020) A falta de suplementação pode levar ao desenvolvimento da doença conhecida por escorbuto, cujo sua etimologia faz referência à classe de substâncias que são unanimidade para a terapia dessa patologia, os ascorbatos. As principais manifestações iniciais da hipovitaminose C são fadiga, perda de apetite e irritabilidade. Com o agravamento da falta de suplementação, ocorrem hemorragias e deficiência na cicatrização de feridas resultado da formação comprometida de colágeno. Com isso, a suplementação dietética vitamínica se torna necessária para evitar prejuízos causados pela deficiência da Vit C (SKROVANKOVA et al., 2015; SMIRNOFF, 2018; SPETH, 2018; SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2014).

### **2.2.1 Aspectos químicos, biogênese e propriedades**

A principal forma biológica ativa da vitamina C no pH fisiológico é o L-ácido ascórbico, embora a sua forma oxidada (ácido deidroascórbico) e em menor proporção, sua forma esterificada solúvel em gorduras (palmitato de ascorbila), também represente um dos principais alvos nos métodos de determinação utilizados para quantificar o teor de vitamina C no organismo, nos alimentos e produtos em geral (GÓMEZ RUIZ et al., 2016; SKROVANKOVA et al., 2015; SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2014). Todas essas estruturas podem ser visualizadas na figura 3.

**Figura 3.** Estrutura química da vitamina C (L-ácido ascórbico) e seus principais derivados químicos presentes no organismo humano.



**Fonte:** Autoria própria

Animais e plantas possuem diferentes rotas biossintéticas para o ácido ascórbico. Enquanto os animais utilizam a glicose, as plantas usam a D-manose como produto de partida. Destaca-se o papel da enzima terminal L-gulono-1,4-lactona oxidase (GULO) como etapa limitante para a síntese do ácido ascórbico em humanos devido à perda funcional dessa enzima. As plantas terrestres utilizam a L-galacto-1,4-lactona desidrogenase (GLDH) como alternativa na última etapa de sua via biossintética. Apesar de serem semelhantes, a GLDH possui a grande vantagem de não produzir radicais livres como resíduo de sua ação enzimática. Essa característica adquirida evolutivamente funciona como efeito somatório ao efeito antioxidante do próprio ácido ascórbico em proteger as células fotossintéticas das plantas frente às espécies reativas de oxigênio (EROS) produzidas no ato da fotossíntese catalisada pela radiação solar (SMIRNOFF, 2018; WHEELER et al., 2015).

Após a ingestão da vitamina C, a absorção ocorre principalmente de maneira específica através do transportador dependente de sódio para a vitamina em questão. A forma oxidada do ácido ascórbico, o ácido deidroascórbico, que também é representativa para a vitamina, utiliza os transportadores de glicose (GLUT) para sua absorção, sendo reduzido a sua forma original

no interior da célula endotelial. Aproximadamente 90 % de todo conteúdo é absorvido do trato gastrointestinal tornando-se biodisponível e bem distribuído entre os eritrócitos, leucócitos e todos os tecidos.

Outra subclasse de transportadores de vitamina C está presente nas demais células do organismo, sendo a grande responsável por reduzir a concentração plasmática do ácido ascórbico ao realizar o transporte para o interior dos diversos tecidos. Como se trata de uma vitamina hidrossolúvel, é normalmente filtrada pelos glomérulos renais, com um mecanismo de retroalimentação regido pelo mecanismo da reabsorção tubular nos rins para compensar uma possível deficiência endógena de vitamina C (ECK, 2018; PADAYATTY; LEVINE, 2016; SKROVANKOVA et al., 2015; SUBRAMANIAN et al., 2019).

As concentrações plasmáticas de vitamina C são fortemente controladas quando a vitamina é tomada oralmente. A saturação dos transportadores para a vitamina C é o principal fator limitante da absorção e biodisponibilidade. Detalhadamente, a biodisponibilidade máxima da vitamina C geralmente é atingida em doses mais baixas e diminui com a elevação de suplementos orais: 87% para 30 mgs, 80% para 100 mgs, 72% para 200 mgs, 63% para 500 mgs e menos de 50% para 1250 mgs (MANDL; SZARKA; BÁNHEGYI, 2009)

O ácido ascórbico é um agente redutor, ou doador de elétrons, característica química responsável por seus efeitos fisiológicos conhecidos. Sua capacidade em doar elétrons neutraliza espécies oxidativas reativas danosas às células de diversos órgãos, preservando o desencadeamento de diversas patologias como câncer e alterações cardiovasculares. Sua característica como ácido de Lewis justifica sua participação em diversas rotas metabólicas como cofator decorrente de sua capacidade em ativar enzimas por esse mecanismo químico. Podemos citar a ativação da prolil-4-hidroxilase que participa da biossíntese do colágeno (PADAYATTY; LEVINE, 2016; VASTA; RAINES, 2016).

Essa mesma atividade antioxidante e reguladora do pH fornece embasamento para o uso do ácido ascórbico como agente estabilizador e modificador no processamento de alimentos funcionais e no desenvolvimento de medicamentos. O próprio ácido ascórbico além de ser adicionado em alimentos processados como aditivo, está disponível também para administração em diversas apresentações farmacêuticas como comprimidos, drágeas, cápsulas duras e moles, suspensões misturas líquidas com variadas posologias (ABE-MATSUMOTO; SAMPAIO; BASTOS, 2018; KIM et al., 2016).

As matrizes nutricionais complexas como frutas cítricas são o ponto de partida para a extração e isolamento da Vit C para serem incorporadas em diferentes formulações nutracêuticas e cosméticas. Mas para que isso ocorra, todo o processamento industrial necessita

de uma abordagem metodológica robusta, sensível e eficiente para qualificar e quantificar a Vit C independente da complexidade da matriz onde está inserida a vitamina e sua labilidade a diversos agentes externos (CHANG et al., 2015; HERBIG; RENARD, 2017). Para a determinação analítica da Vit C, diversos métodos analíticos são relatados com esse sentido: métodos titulométricos/colorimétricos (FUKUSHIMA et al., 2018) espectroscópicos (GÓMEZ RUIZ et al., 2016); cromatográficos (COTRUȚ; BĂDULESCU, 2016); quimiométricos (MORAES et al., 2019) e eletroquímicos (SKROVANKOVA et al., 2015).

### 2.3 LIOFILIZAÇÃO

Diante do elevado valor nutricional e dos fins comerciais, as frutas necessitam de atenção especial quanto a adoção de uma técnica de desidratação que permita a sua estabilização em formas secas menos perecíveis para a veiculação de forma mais adequada de macro e micronutrientes em formulações isentas de conservantes contribuindo também para a melhor preservação do sabor e aroma característico de cada fruto e prolongando seu tempo de prateleira (KAWASAKI; SHIMANOUCI; KIMURA, 2019; MARQUES; FERREIRA; FREIRE, 2007).

A liofilização é uma técnica muito conveniente para desidratar materiais sensíveis ao calor, como é o caso da vitamina C como principal constituinte do fruto da acerola (MARQUES, FERREIRA; FREIRE, 2007). Trata-se de um processo industrial que consiste na remoção de água de uma amostra congelada por sublimação e dessorção sob vácuo. Além da melhor estabilidade, produtos liofilizados são de fácil manuseio e prontamente dissolvidos em meio aquoso. O processo divide-se em três etapas: congelação (solidificação), secagem primária (sublimação) e secagem secundária (dessorção de água descongelada) (PIKAL; TANG, 2004; KASPER; FRIESS, 2011).

Inicialmente, o material é depositado em bandejas de alumínio ou aço inoxidável com dimensões específicas para cada tipo e marca de liofilizador. As bandejas com o material serão submetidas ao congelamento em ultrafreezer ou até utilizando nitrogênio líquido diretamente sobre o material forçando sua rápida solidificação. É muito relevante que o material esteja necessariamente no estado sólido antes da aplicação do vácuo do equipamento liofilizador para evitar a formação de espumas se ainda permanecer água em seu estado líquido presente no material. Normalmente, a temperatura necessária na etapa de congelamento da amostra a ser liofilizada é menor que a temperatura de congelamento da água pura. E quanto ao material a ser

congelado, quanto mais concentrado esse material, pela presença de sólidos solúveis, menor será a temperatura necessária para o total congelamento da amostra (CAPOZZI; PISANO, 2018; KUU; HARDWICK; AKERS, 2006; MARQUES; COSTA, 2015).

Com o material já totalmente congelado e dentro do liofilizador, com uma ambientação de temperatura reduzida para conservar o estado congelado da amostra, um vácuo é aplicado para que a pressão dentro do equipamento seja reduzida para abaixo do ponto triplo da água para que o fenômeno da sublimação da água dentro da amostra a ser seca aconteça. Na etapa de sublimação, que caracteriza a secagem primária, um calor latente de sublimação é fornecido para que haja tal processo físico. Essa etapa de secagem acontece lentamente e depende diretamente da área superficial e da espessura do material congelado (AULTON 2016a; KODAMA et al., 2014)

No decorrer do processo, praticamente toda a água na forma de gelo é removida do material, onde o mesmo ganha um aspecto poroso. Esses poros presentes no material seco pela liofilização (liófilo) representam a presença física dos cristais de gelo no material congelado. É comum que após a etapa de sublimação, resquícios de umidade ainda estejam adsorvidas ou absorvidas de maneira mais íntima com a amostra permanecendo no material, sendo necessário uma secagem secundária para a remoção por dessorção dessa umidade residual que pode afetar a qualidade do produto. Nessa segunda secagem será necessário um aumento mais sugestivo da temperatura até certo ponto dependendo da sensibilidade do material para evitar sua degradação (AULTON 2016a; KAWASAKI; SHIMANOUCI; KIMURA, 2019; OHORI; YAMASHITA, 2017).

Nessas duas etapas de secagem, um fator deve ser muito bem analisado e controlado: a transferência de calor. Esse fator é fundamental para o sucesso da liofilização, pois uma transferência insuficiente de calor latente tanto para sublimação quanto para a dessorção de umidade deixará o processo de secagem ainda mais longo que o normal para esse tipo de secagem, visto que lentidão do processo já é característico da liofilização sendo uma das suas principais desvantagens. O excesso nessa transferência de calor também deve ser alvo de um controle, pois uma transferência excessiva de calor pode provocar a reação de fusão do material podendo induzir a sua deterioração. É importante que não tenha um aumento considerável da temperatura, mas apenas o necessário em termos de calor para possibilitar a sublimação (KUU; HARDWICK; AKERS, 2006)

Através da secagem do material dentro do equipamento, vapor é formado tanto na etapa da sublimação quanto na etapa de secagem por dessorção. Esse vapor deve ser removido do

equipamento para não incrementar nos valores de pressão fornecido pelo próprio liofilizador além do ponto triplo para a sublimação (AULTON, 2016a).

Com isso, a secagem por liofilização que já característico em ter ótimos rendimentos de processo e facilidades de escalonamento na indústria farmacêutica e alimentícia, possuem outras diversas vantagens frente a outros métodos de secagem que utilizam altas temperaturas (*Spray-drying* e estufa) em secar e estabilizar materiais termossensíveis produzindo um produto seco e poroso. Além de utilizar temperaturas baixas compatíveis com os materiais candidatos a liofilização, o vácuo presente na ambientação do equipamento praticamente isenta o contato da amostra com o ar reduzindo a oxidação, sendo uma condição perfeita para minimizar a oxidação em materiais sensíveis a esse processo, a vitamina C por exemplo (TSINONTIDES et al., 2004; ZHU et al., 2018).

Quanto ao material poroso resultado do processo de liofilização possui uma dualidade. Se por um lado essa porosidade deixa o material ainda mais solúvel e mais facilmente dissolúvel por outro lado essa alta solubilidade juntamente com a grande área superficial que esse material poroso tem, deixa-o altamente higroscópico com rápida adsorção e absorção de água em sua superfície deixando o material úmido e, portanto, com dificuldades para algumas operações unitárias (compactação e mistura com excipientes) e análises físico químicas (análise do fluxo de pó), além do fator água para induzir reações de hidrólise e favorecer a proliferação microbológica (BONDOC; BRATUCI, 2017; GANGURDE; ERANDE; SHEVALE, 2019; NIREESHA et al., 2013).

Com isso, para minimizar a captação do teor de umidade do ar pelo material que foi liofilizado, tanto a sua retirada do equipamento quanto o seu armazenamento pós-secagem devem seguir cuidados especiais. Pode ser que o material passe pelo processo da liofilização já dentro do seu recipiente final, evitando a exposição à umidade atmosférica pela sua deslocação do recipiente que o mantém dentro do equipamento para o recipiente que será usado como embalagem (AULTON, 2016a; BONDOC; BRATUCU, 2017).

Balaceando vantagens e desvantagens relacionados ao seu processo, a liofilização possui legitimidade como técnica de secagem propícia para a conservação a longo prazo de diversos produtos, inclusive bases alimentícias contendo moléculas sensíveis ao calor e outros com base nos fenômenos de sublimação. Um processo de liofilização bem-sucedido preserva a maioria das propriedades iniciais da matéria-prima, como forma, dimensões, aparência, sabor, cor, sabor, textura e atividade biológica, além de fornecer um material seco que poderá ser utilizado em outras operações unitárias, inclusive a compressão, caso seja o objetivo de

produção e desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas (GUGULOTHU et al., 2014; KASPER; WINTER; FRIESS, 2013).

### **2.3.1 Adjuvantes tecnológicos utilizados na secagem por liofilização**

Corriqueiramente, nos métodos de secagem utilizados para a desidratação de vários produtos, incluindo sucos e polpas de frutas, são utilizados diversos adjuvantes de secagem para a otimização da obtenção de um produto seco mais estável e com melhores propriedades físicas (MORAES et al., 2017).

Os adjuvantes atuam microencapsulando as amostras a serem secas, protegendo-as de danos oriundo do processo da secagem por liofilização. Entre os diversos agentes microencapsulantes utilizados, encontram-se os glicídios e seus derivados como a lactose e o manitol, sendo bem comum o uso da maldodextrina, o dióxido de silício coloidal, a goma arábica e os derivados da celulose como o hidroxipropilmetilcelulose e carboximetilcelulose (OLIVEIRA; COSTA; AFONSO, 2014; RODRIGUES, 2017).

Além da capacidade em promover a obtenção de um produto liofilizado mais estável, esses adjuvantes de secagem ao serem inseridos na matriz da amostra a ser liofilizada, promovem a redução da higroscopicidade do produto liofilizado resultante. Isso ocorre por esses agentes normalmente possuírem baixa uma higroscopicidade inerente. Esse fato é crucial para o uso da liofilização, principalmente porque produtos liofilizados são muito higroscópicos e, conseqüentemente, tem baixas propriedades de fluxo (AULTON, 2016b; SHEVALE, 2019).

As vantagens do uso de adjuvantes de secagem na liofilização também se estendem para a proteção física da amostra ao mérito do procedimento de liofilização, já que algumas amostras podem ser instáveis ao criocongelamento usado nessa técnica de secagem, o que pode promover a degradação dos constituintes químicos da amostra, resultando em alterações físicas no bolo liofilizado. Portanto, em alguns casos é imprescindível o uso de adjuvantes que atuem como crioprotetores (FREITAS, et al., 2020; IBRAHIM et al., 2019).

## **2.4 FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS**

Compostos ou insumos farmacologicamente ativos, sintéticos ou extraídos de fontes naturais, geralmente não são administrados aos pacientes de forma isolada, mas são formulados em formas de dosagem cuidadosamente projetadas e desenvolvidas (VAN DER MERWE et al., 2020).

Nessas formulações, os insumos ativos são combinados a substâncias inertes farmacologicamente, mas que contam com várias funções farmacêuticas importantes para a viabilidade de produção e a garantia da estabilidade da formulação durante todo seu tempo de armazenamento. Os excipientes são fundamentais para a conversão dos insumos ativos em plataformas farmacêuticas de dose precisa, segura, eficaz e que possibilite sua administração ao organismo humano (SOPYAN et al., 2020; VAN DER MERWE et al., 2020).

Para o planejamento da formulação farmacêutica que represente o melhor veículo para o princípio ativo, características físico-químicas de todos os componentes da formulação farmacêutica também precisam ser bem delineados antes da produção da mesma. O uso de um dado excipiente na formulação farmacêutica é fundamentado pela sua atividade funcional em benefício da formulação e sua produção, sendo necessário que o mesmo excipiente seja compatível com o composto ativo e com os demais excipientes da formulação (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; HONMANE et al., 2017)

A via de administração oral é a rota mais compatível com o paciente e convencional na administração de medicamentos. Para tal via, as formas farmacêuticas sólidas (comprimidos, cápsulas, pós e multiparticulados) se sobressaem nas prescrições médicas em detrimento às demais formas, principalmente por não apresentar alta estabilidade a degradações decorrentes da atividade da água. Especificamente, a forma sólida comprimido tem a aparência de pequenos cilindros caracterizados por conter uma dose única e exata de um ou mais princípios ativos, com ou sem excipientes, obtido pela compressão de volumes uniformes de partículas. Para a formação do comprimido, os excipientes mais comumente usados são diluentes, aglutinantes, desintegrantes, lubrificantes, deslizadores, estabilizadores e agentes de revestimento (ALDERBORN, 2016; RAUTAMO et al., 2020).

Os comprimidos também são as formas mais convencionais para a indústria farmacêutica, pois eles podem ser produzidos em larga escala de forma econômica com facilidade nos procedimentos de produção, controle e garantia da qualidade. Para a produção de comprimidos, a técnica de compressão é dominante. Nessa técnica, o volume de pó da formulação é comprimido em forças de toneladas por duas punções projetadas para dar o formato (redondo, cilíndrico, oval) característico ao comprimido (AL-ACHI, 2019; MOHAN, 2012).

De forma sucinta, as etapas para a produção de comprimidos usando a compressão consta em: enchimento da matriz com o volume de pó da formulação; encontro entre a punção superior e inferior para a formação do comprimido; e a ejeção do comprimido da matriz. Em todas essas etapas, há a necessidade que o volume de pó tenha boa escoabilidade para facilitar

a ordem de processo de compressão, seja por via direta, via seca ou via úmida. Nesse sentido, para otimizar as características de escoabilidade e compressibilidade do volume de pós, as partículas pulverizadas são convertidas em sistemas multiparticulados, especificamente grânulos, por granulação seca ou úmida, segundo as características das substâncias que compõem o volume de pós (ALDERBORN, 2016; GAIKWAD; KSHIRSAGAR, 2020; MOHAN, 2012).

Além do benefício da maior estabilidade e precisão de dose que os comprimidos apresentam em relação às formas líquidas, essa forma sólida ainda pode mascarar as características organolépticas das substâncias componentes da formulação, reduzindo a interação dessas substâncias com as papilas gustativas bucais, se esse for o objetivo delineado para a formulação sólida. Essas vantagens são as mais relevantes ao eleger a forma farmacêutica comprimido para veicular alimentos funcionais que precisam ser estabilizados em formas sólidas para o prolongamento de seu tempo de validade e para minimizar o sabor amargo das substâncias presentes no alimento estabilizado (SAWAN, 2015; SUN-WATERHOUSE; WADHWA, 2012).

#### **2.4.1 Comprimidos mastigáveis**

Os comprimidos são usados principalmente para disponibilizar o insumo ativo para a circulação sistêmica e, para tal, o insumo precisa ser liberado da estrutura do comprimido através da sua desintegração e desagregação ao longo do trato gastrointestinal, para então, se dissolver e ser absorvido, se tornando biodisponível (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Entre as personalizações possíveis de serem atribuídas aos comprimidos, alguns fatores precisam ser analisados durante seu delineamento como: a característica físico-química do insumo ativo vai ditar onde ele precisa ser liberado no trato gastrointestinal para a otimização de sua absorção; a dose necessária do insumo ativo impacta de maneira direta com o tamanho e o formato do comprimido; e o desejo em disponibilizar no mercado uma alternativa farmacêutica ao paciente, na busca de aumentar sua adesão ao tratamento (HONMANE et al., 2017; DILLE; HATTREM; DRAGET, 2017)

Mesmo que o comprimido, como forma farmacêutica sólida, seja mais convencional para o paciente, dependendo do tamanho dessa forma sólida compacta, alguns grupos particulares de pacientes, idosos e crianças, comumente tem baixa adesão pelo uso de comprimidos, principalmente pelas suas dificuldades de deglutição. Contudo, modificações na composição do comprimido, principalmente em termos de excipientes, podem fornecer certas

categorias de comprimidos com definições variadas que representam uma alternativa farmacêutica sólida, estável e que apresente menor risco de causar engasgamento em idosos e crianças (RAUTAMO et al., 2020; SHARIFF MPHARM et al., 2020).

O comprimido designado de “mastigável” representa umas dessas alternativas por ser caracterizado por desintegrar antes da deglutição de seu conteúdo. A principal diferença dos comprimidos mastigáveis com os convencionais é a não necessidade da inclusão de agentes desintegrantes, já que o ato da mastigação promove uma rápida desintegração dessa categoria de comprimido, facilitando a sua administração e promovendo um efeito rápido do insumo ativo que já chega parcial ou totalmente desintegrado no estômago (BATRA; SHARMA; SINGH, 2019; RENU et al., 2015)

Essa categoria de comprimido se encaixa muito bem quando a dose necessária do insumo ativo é muito alta ou quando vários insumos ativos desejam ser co-administrados em uma única formulação, como é o caso dos polivitamínicos. Além disso, por ainda desintegrar na boca e, portanto, expor seu conteúdo às papilas gustativas, é necessário a presença de edulcorantes e flavorizantes para que essa forma de comprimido seja ainda mais atraente (ALDERBORN, 2016; RENU et al., 2015).

# **MATERIAL E MÉTODOS**

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 Obtenção da polpa da acerola

Os insumos (polpas/extratos) derivados da acerola foram cedidos pela LAPON Indústria Farmacêutica Ltda., através de parceria já consolidada com a NIAGRO, localizada em Petrolina, Estado de Pernambuco, Brasil. Foram recebidos três tipos de polpa, com Brix (°Bx) de 7,12° (Lote 20628), 21,61° (Lote 19904) e 50,5° (20033).

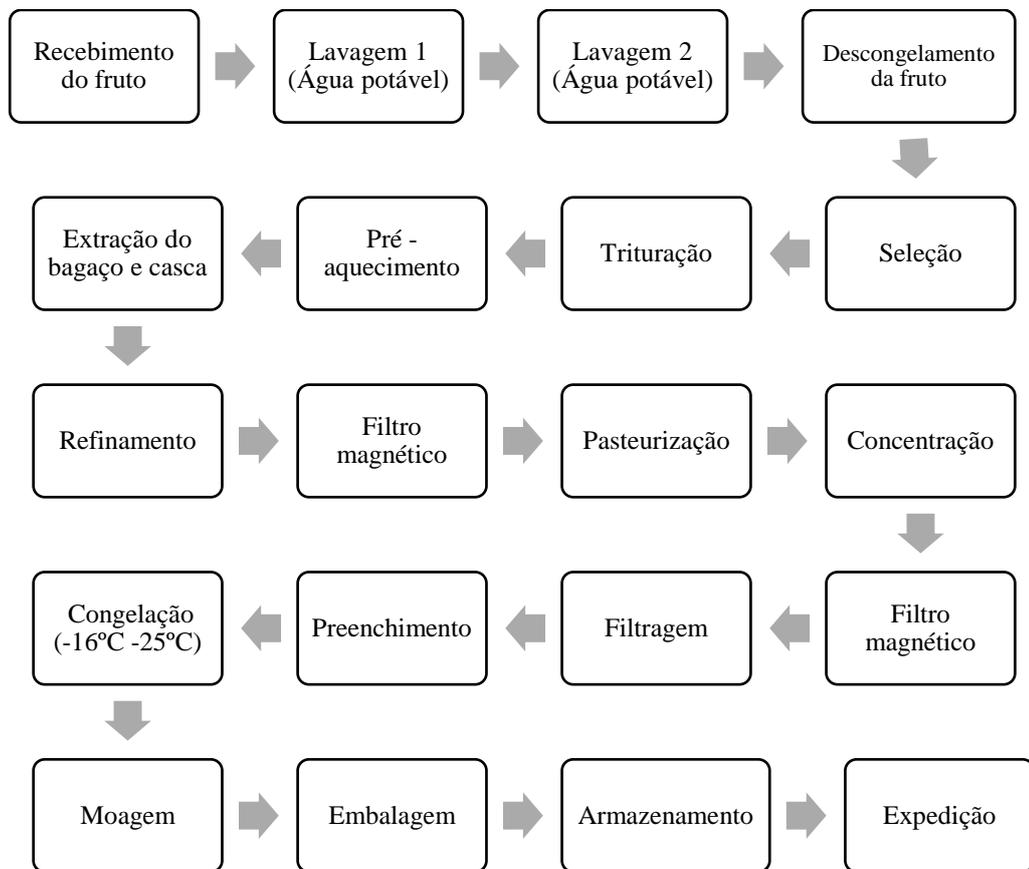
O Brix (°Bx) representa um método indireto para determinar a quantidade de sólidos solúveis açúcares, ácidos, sais, etc) em uma respectiva amostra em solução. Trata-se de uma escala numérica do índice de refração da luz polarizada ocasionada pela presença de compostos solúveis na amostra. Na medição, um grau Brix (1°Bx) é igual a 1g de açúcar por 100 g de solução, ou 1% de açúcar (RESENDE, et al., 2010).

Os insumos foram armazenados desde o seu processamento em potes devidamente fechados sendo submetidas ao congelamento. Após o recebimento dos insumos no local de realização da pesquisa, as polpas foram armazenadas sob refrigeração (-1.6° C). As polpas devidamente armazenadas são apresentadas na figura 4, logo após, a figura 5 ilustra o fluxograma de obtenção das polpas da acerola pela NIAGRO.

**Figura 4:** Polpas devidamente armazenadas recebidas para o prosseguimento da pesquisa.



Fonte: Autoria própria

**Figura 5:** Fluxograma de obtenção das polpas de acerola.

**Fonte:** Autoria própria

### 3.1.2 Bagaço da acerola

Os resíduos agroindustriais (bagaços) da acerola foram adquiridos também através de doação pela LAPON Indústria Farmacêutica Ltda. em parceria com a NIAGRO. A seção 3.4.4 apresenta os detalhes de obtenção da amostra do bagaço utilizada nesse estudo.

## 3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), juntamente com as indústrias LAPON e NIAGRO.

### 3.3 METODOLOGIAS

#### 3.3.1 Controles de qualidade físico-químico das polpas *in natura*

Com a finalidade de caracterizar as polpas da acerola *in natura* para autenticação do padrão de qualidade da matéria-prima, as determinações físico-químicas foram realizadas com os procedimentos descritos abaixo.

##### 3.3.1.1 Acidez titulável

Para determinação da acidez titulável (AT) utilizou-se o método de titulometria, seguindo a norma 312/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008). Inicialmente realizou-se a padronização do hidróxido de sódio com o biftalato de potássio, para obter o fator de correção do hidróxido de sódio. Para a acidez titulável usou-se aproximadamente 1,0 g da amostra diluída em 50 mL de água destilada e 2-3 gotas de indicador (fenolftaleína 1%) em Erlenmeyer de 100 mL e então titulou-se com hidróxido de sódio 0,1 N até coloração levemente rósea. Para o cálculo utilizou-se a Equação (1):

$$\% \text{ ácido cítrico } \left( \frac{g}{100g} \right) = \frac{V \times F \times M \times PM}{10 \times P \times n} \quad (1)$$

Onde: % ácido cítrico = por cento m/m (massa por massa), expressando o número de gramas do ácido contido em 100 g do produto.

V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação;

F = fator de correção da solução de hidróxido de sódio;

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio;

PM = peso molecular do ácido cítrico (192);

P = massa da amostra em g ou volume pipetado em mL;

n = número de hidrogênios ionizáveis do ácido cítrico.

##### 3.3.1.2 pH

O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado de acordo com a norma analítica 017/IV do Instituto Adolfo Lutz de 2008, utilizando pHmetro digital pHmetro digital

(Micronal®) previamente calibrado com soluções-tampão de pH 4,0 e 7,0. Realizou-se uma diluição de 1,0 g da amostra em 10 mL de água destilada, e após as partículas estarem uniformemente suspensas foi efetuada a leitura.

#### 3.3.1.3 Sólidos solúveis (*Brix*)

Os sólidos solúveis foram verificados por meio do refratômetro de bancada da marca AUS JENA, segundo normas analíticas 315/IV para frutas e produtos de frutas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### 3.3.1.4 Sólidos totais (*ST*)

O teor de sólidos totais (dissolvidos e suspensos) foi determinado conforme a norma analítica 202/IV Instituto Adolfo Lutz de 2008 através do cálculo indireto, por diferença, a partir do valor da umidade.

#### 3.3.1.5 Teor de cinzas

Determinada segundo a norma analítica 018/IV para cinzas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Pesou-se 5 g da amostra em cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla a 550°C, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Após isso, a cápsula de porcelana contendo a amostra foi incinerada em mufla a 550°C, até eliminação completa do carvão e as cinzas ficarem brancas ou acinzentadas. O teor de cinzas foi calculado de acordo com a Equação 3:

$$\frac{100 \times N}{P} = \% \text{ de cinzas (m/m)} \quad (2)$$

Onde: N = número em gramas de cinzas;

P = número em gramas da amostra.

#### 3.3.1.6 Densidade relativa

A densidade relativa foi determinada de acordo com o método descrito pela A.O.A.C. (2002) utilizando-se um picnômetro de 25 mL de capacidade, previamente calibrado com água

destilada a 20 °C e pesado em balança analítica (Shimadzu®). Para o cálculo utilizou-se a Equação (2):

$$d_{s=} = \left[ \frac{m_{\text{líquido}}}{m_{\text{água pura}}} \right] = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1 T} \quad (3)$$

Usando o picnômetro para se medir densidade de líquidos, faz-se a tara do mesmo e pesa-se o picnômetro com água e com a polpa, sendo:

*m1*: a massa do picnômetro vazio;

*m2*: a massa do picnômetro cheio com o líquido cuja densidade relativa se deseja determina;

*m3*: a massa do picnômetro cheio de água destilada.

### 3.3.1.7 *Resíduo seco*

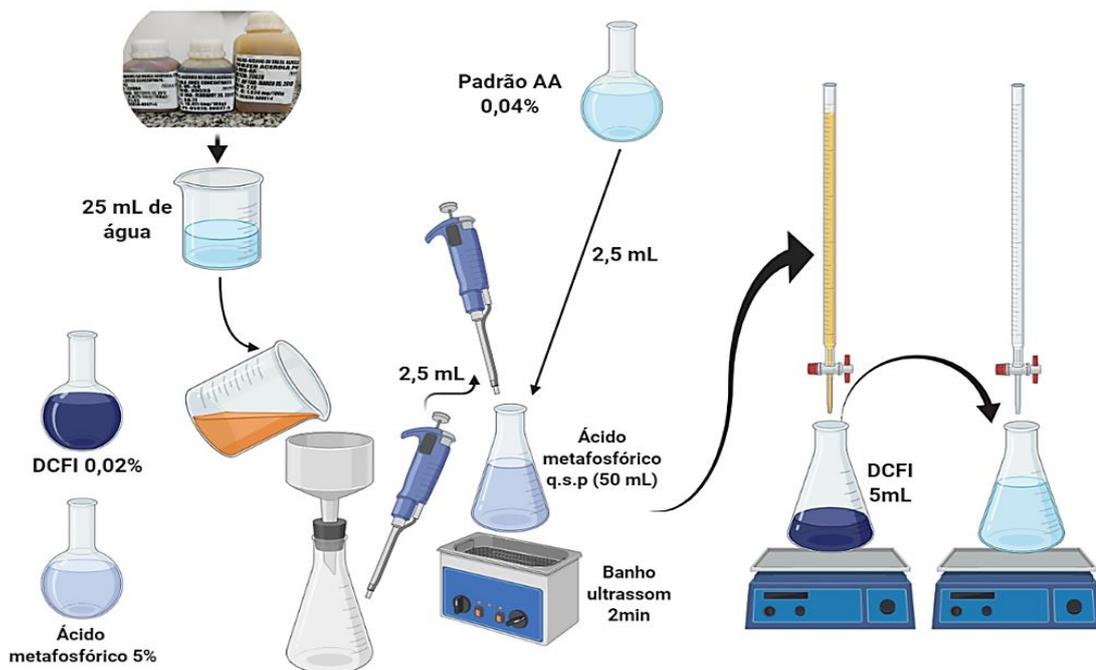
O resíduo seco foi reproduzido segundo a metodologia da Farmacopeia Brasileira 6º ed. Transferiu-se 2 mL ou 2 gramas dependendo do tipo de extrato (polpa) utilizado, para um pesa filtro previamente aquecido a 105°C por 30 minutos, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado. Evaporou-se em banho-maria toda parte líquida da amostra, e em seguida foi levada para estufa (Ethik®), pré-aquecida, a 105°C por 3 horas. Após passado o tempo, esfriou-se a amostra em dessecador até a temperatura ambiente e pesou. O resultado foi expresso em relação a 100 g ou 100 mL dependendo do tipo de extrato usado, obtendo-se o percentual (massa/massa) ou massa/volume volume referente à média de três determinações. Os valores de resíduo seco também foram utilizados para o cálculo do rendimento da secagem por liofilização das polpas.

### 3.3.1.8 *Doseamento da vitamina C*

Foi determinado segundo metodologia titulométrica/colorimétrica indireta semelhante ao método de Tillmans com adaptações fornecida pela NIAGRO e validado por Oliveira e Prado (2010). Nesse método, o ácido ascórbico (vitamina C) presente na amostra sujeita a análise através da reação de oxidação/redução, reduz o indicador 2,6-diclorofenol-indofenol (DCFI), ocasionando a mudança colorimétrica de uma solução azulada para uma solução incolor (OLIVEIRA; GODOY; PRADO, 2010).

Primeiramente, preparou-se as soluções de ácido metafosfórico 5%, solução de DCFI 0,02% e solução de ácido ascórbico 0,04% (padrão L [+] -ácido ascórbico/grau HPLC/Lote: 43005). Em seguida, as amostras das polpas foram pesadas e adicionadas a 25 mL de água e filtradas em algodão. Desse filtrado coletou-se 2,5 mL e completou em um balão de 50 mL com ácido metafosfórico que foi colocado em uma bureta e titulado em um Erlenmeyer contendo 5 mL de solução de DCFI até a mudança de cor azul profundo para transparente. O mesmo procedimento foi realizado para titulação da solução padrão de ácido ascórbico a partir da coleta de 2,5 mL da solução de concentração de 0,04%. Um esquema ilustrativo da metodologia de doseamento está representado na figura 6.

**Figura 6:** Fluxograma ilustrativo da metodologia de doseamento da vitamina C pelo método titulométrico invertido de Tillmans



Fonte: Autoria própria.

### 3.3.2 Processo de secagem das polpas da acerola pelo método da liofilização

Para o estudo e análise das variáveis do método da liofilização visando a otimização do processo de secagem, as liofilizações foram realizadas em liofilizador de bancada LIOTOP® (modelo L101), com capacidade para até 3L de gelo em 24 horas e capacidade total de 5L. Na operação da liofilização, a temperatura do equipamento atinge -55 °C com refrigeração por compressor hermético e indicação digital de pressão de vácuo na escala de 38 a 438 µHg.

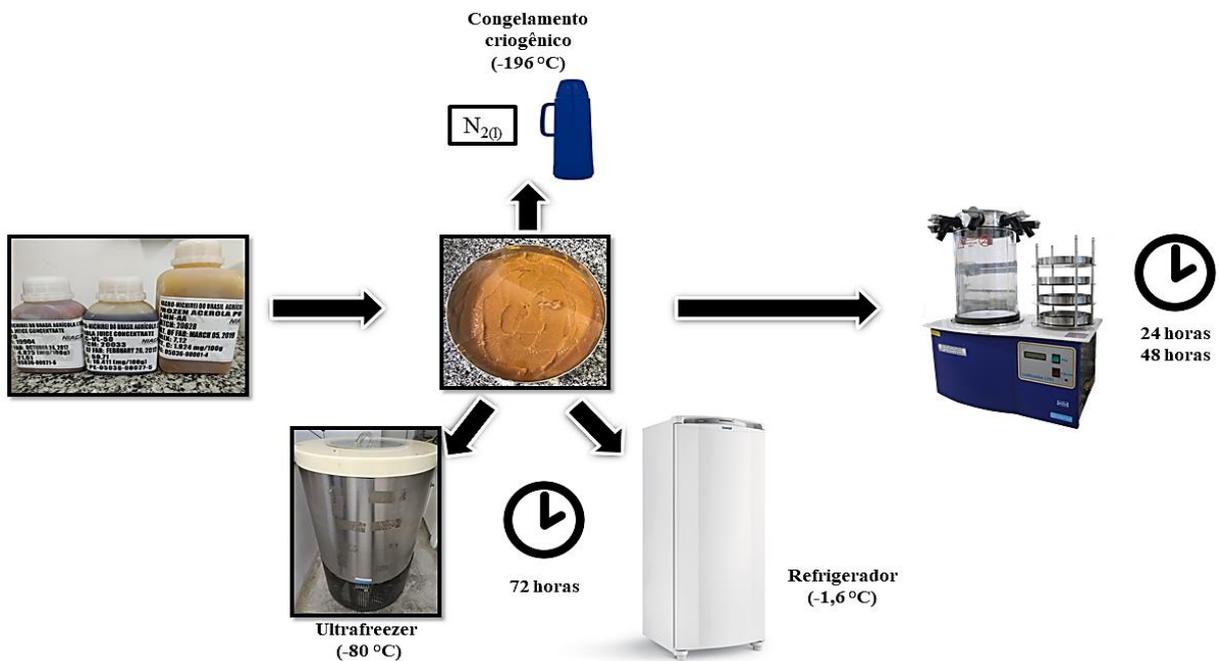
### *3.3.2.1 Preparação das amostras, condições de congelamento e tempo de liofilização*

Nesse estudo, as amostras das polpas da acerola não sofreram nenhum tipo de pré-tratamento, especificamente pela adição de agentes microencapsulantes. Aproximadamente 25 gramas de cada amostra de polpa foi transferida para as bandejas de aço inox (espessura de 2,5 cm e capacidade para 500 mL) com o cuidado na manutenção da espessura da camada de material a ser seco. Para possibilitar o processo de liofilização e avaliar a influência de diferentes condições de congelamento da amostra na qualidade do produto seco, as polpas foram congeladas de três formas em suas respectivas condições: refrigerador doméstico (Consul CRB 36/300 L) registrando a temperatura de  $-1,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  por três dias; em ultrafreezer (Sanyo MDF-U53VC) registrando a temperatura de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  também por três dias; e através do congelamento criogênico pela imersão de nitrogênio líquido ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) nas amostras ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

A liofilização foi realizada com a estabilidade da pressão em torno de  $124\text{ }\mu\text{Hg}$  e com a temperatura ambiente do equipamento variando entre  $-55$  e  $-57\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Todos os ciclos de liofilização foram mantidos nos mesmos padrões de secagem para as diferentes amostras de polpas previamente submetidas aos diferentes métodos de congelamento testados e avaliados (refrigeração, congelamento em ultrafreezer e criocongelamento). O tempo do ciclo da etapa de sublimação foi realizada nos períodos entre 48 e 24 horas.

A seguir a figura 7 ilustra todas as variáveis testadas quanto ao processo de secagem por liofilização das amostras de polpas de acerola. Logo após, a tabela 5 detalha todos os ciclos de liofilização testados e os respectivos códigos adotados para os produtos liofilizados resultantes.

**Figura 7:** Fluxograma ilustrativo da metodologia da secagem por liofilização e as variáveis do processo que foram avaliadas.



Fonte: Autoria própria.

**Tabela 3:** Condições experimentais para avaliação dos efeitos do tipo de congelamento utilizado para as amostras e o tempo de processo de secagem por liofilização da polpa da acerola.

°Brix	Condições de congelamento	Tempo de processo de secagem (horas)	Código
7,12	Ultrafreezer (-80 °C)	48	48B7U
7,12	Ultrafreezer (-80 °C)	24	24B7U
7,12	Refrigerador (-1,6 °C)	48	48B7R
7,12	Refrigerador (-1,6 °C)	24	24B7R
7,12	Nitrogênio (-196 °C)	48	48B7N
7,12	Nitrogênio (-196 °C)	24	24B7N
21,61	Ultrafreezer (-80 °C)	48	48B21U
21,61	Ultrafreezer (-80 °C)	24	24B21U
21,61	Refrigerador (-1,6 °C)	48	48B21R
21,61	Refrigerador (-1,6 °C)	24	24B21R
21,61	Nitrogênio (-196 °C)	48	48B21N
21,61	Nitrogênio (-196 °C)	24	24B21N

<b>50,5</b>	Ultrafreezer (-80 °C)	48	<b>48B50U</b>
<b>50,5</b>	Ultrafreezer (-80 °C)	24	<b>24B50U</b>
<b>50,5</b>	Refrigerador (-1,6 °C)	48	<b>48B50R</b>
<b>50,5</b>	Refrigerador (-1,6 °C)	24	<b>24B50R</b>
<b>50,5</b>	Nitrogênio (-196 °C)	48	<b>48B50N</b>
<b>50,5</b>	Nitrogênio (-196 °C)	24	<b>24B50N</b>

**Fonte:** Autoria própria.

### 3.3.3 Caracterização físico-química dos liófilos

As caracterizações físico-químicas dos liófilos (polpas liofilizadas) foram necessárias para a avaliação das melhores condições experimentais do processo de secagem por liofilização.

Todas as metodologias analíticas utilizadas nas diferentes fases do estudo serão apresentadas a seguir.

#### 3.3.3.1 Avaliação macroscópica dos liófilos

Respectivamente, cada liófilo foi cuidadosamente removido da bandeja de aço inox logo após o tempo de secagem e, em seguida, submetido a avaliação macroscópica. A análise macroscópica foi realizada através da observação de parâmetros como aparência, textura, capacidade de maceração e formação de *caking* no material macerado, o *caking* é o fenômeno caracterizado pela aglomeração das partículas de um material altamente pegajoso (RIBEIRO, 2014).

#### 3.3.3.2 Teor de Umidade através da perda por dessecação

Utilizou-se a metodologia adapta para extratos secos de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição. Pesou-se 0,5 da amostra em um pesa-filtro previamente dessecado por 30 minutos a  $105 \pm 2$  °C, e resfriado à temperatura ambiente em dessecador. A amostra foi distribuída de maneira uniforme pelo pesa-filtro e colocada para secar em estufa a 105°C durante 3 horas. Após as 3 horas as amostras foram retiradas da estufa, resfriadas em dessecador e procedeu-se com o cálculo do peso. O processo foi repetido até peso constante, adicionando-se 30 minutos a cada novo ciclo. Com resultado de umidade expresso em porcentagem p/p.

### 3.3.3.3 *Teor de Umidade através da termogravimetria (TG)*

Para fins comparativos com o método gravimétrico convencional, o teor de umidade dos líofilos também foi analisado pelo ensaio gravimétrico isotérmico utilizando a termogravimetria (TG). O método utilizado foi uma adaptação da metodologia de Silva (2010). Nos ensaios de termogravimetria foi empregada uma termobalança, modelo TGA-60 da marca Shimadzu®. Com intervalo máximo de temperatura de 25°C a 105 °C, as curvas isotérmicas TG foram obtidas com uma razão de aquecimento crescente de forma gradativa, iniciando com a razão de 10 °C.min<sup>-1</sup> a partir da temperatura ambiente (25°C) até 70°C, seguindo para a razão de 5 °C.min<sup>-1</sup> mantida para a faixa de temperatura entre 70-90°C, e por fim, a partir dos 90°C, a razão de aquecimento foi reduzida para o valor de 2°C.min<sup>-1</sup> até alcançar a temperatura de 105 °C, temperatura essa que permaneceu constante por 120 minutos, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL.min<sup>-1</sup>). Para a realização dos ensaios foram utilizadas massa de amostras de 5,00±0,5mg em suporte de amostras de platina. Antes dos ensaios foram obtidas curvas em branco para avaliar a linha de base do sistema. A calibração dos equipamentos foi realizada na razão de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup>, com o padrão de oxalato de cálcio.

### 3.3.3.4 *Atividade de água*

A atividade de água foi determinada utilizando o higrômetro digital Pawkit (AquaLab Decagon Devices Ltda.) a uma temperatura de cerca de 26° C.

### 3.3.3.5 *Prospecção fitoquímica (Triagem fitoquímica qualitativa)*

A prospecção fitoquímica do líofilo da polpa da acerola foi realizada em parceria com o Núcleo de Desenvolvimento Analítico e Tecnológico de Fitoterápicos (NUDATEF/UFPE), através da utilização da técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD). A metodologia utilizada foi adaptada de Wagner e Bladt (1996) e Braz e colaboradores (2012).

Aproximadamente 1 g do líofilo foi solubilizado em 1 mL de metanol, em eppendorf, sendo, logo em seguida, submetido à agitação, até solubilização completa. Todas as classes de metabólitos secundários e padrões químicos utilizados nessa triagem estão apresentados na tabela 6. Com auxílio de um capilar de vidro, tanto as amostras, quanto os padrões foram aplicados em placas cromatográficas de sílica gel 60 – F254 (distância padrão de 5 cm da base

e dos pontos de aplicação da amostra/padrão), sendo eluídas em cubas saturadas com o sistema móvel específico (tabela 6), utilizando reagentes grau analítico durante todo experimento.

Após secagem à temperatura ambiente, as placas foram visualizadas sob a luz ultravioleta (254 e 365 nm e/ou luz visível, de acordo com o metabólito avaliado), reveladas com os agentes cromogênicos específicos (tabela 4) e fotografadas (Fotodocumentador, modelo MULTIDOC-IT 125 TLC, UVP®). As bandas obtidas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes, assim como, pela análise do fator de retenção (Rf).

**Tabela 4:** Padrões químicos, sistemas eluentes e agentes cromogênicos utilizados na triagem fitoquímica do líofilo da acerola.

Classe de metabólitos	Sistema	Agente cromogênico	Padrão
Taninos Hidrolisáveis	90:5:5 <sup>A</sup>	Cloreto férrico (FeCl <sub>3</sub> )	Ác. gálico
Taninos condensados		Vanilina clorídrica + Δ	Catequina
Flavonoides		Cloreto de alumínio ou difenilboriloxietilamina + polietilenoglicol	Rutina e Quercetina
Derivados Cinâmicos			Ác. Cafeico
Terpenos e Esteroides	70:30 <sup>B</sup>	Liebermann-Burchard + Δ	β-Sitosterol
Cumarinas	50:50:50 <sup>C</sup>	Hidróxido de potássio 10% + Δ	Cumarina
Alcaloides	70:20:10 <sup>D</sup>	Dragendorff	Atropina
Açúcares	50:20:10:10 <sup>E</sup>	Timol 0,5% EtOH	Maltose e manose

Legenda: <sup>A</sup>acetato de etila: ácido fórmico: água; <sup>B</sup>tolueno: acetato de etila; <sup>C</sup>éter etílico: acetato de etila: saturado com ácido acético 10%; <sup>D</sup>tolueno: acetato de etila: dietilamina; <sup>E</sup>acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético.

**Fonte:** Adaptado de Wagner e Bladt (1996).

### 3.3.3.6 Tamanho de partícula por granulometria à laser

As amostras dos líofilos foram dispersas em uma solução de tensoativo Triton X 100 a 0,02% e posteriormente, submetidas à banho ultrassom durante 3 minutos. Para a análise da

distribuição granulométrica, um analisador da distribuição de partícula Microtac® S3500 foi utilizado, com o tempo de medição de 30 segundos, e um fluxo de 70%. Foi utilizado o método Fraunhofer (CILAS, 2016).

#### 3.3.3.7 *Microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

Parte das análises dos melhores líofilos foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas em parceria com o Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA). As análises foram realizadas utilizando um microscópio EVO® modelo LS 15-ZEISS, operando em 10KV, após serem fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro em um ciclo de 60 segundos por 6 minutos (Metalizador Quorum®, Q150T).

Uma outra parte das análises por MEV das melhores amostras dos líofilos foram realizadas no Serviço de Microscopia Eletrônica do Instituto de Pesquisa Gonçalo Muniz, FIOCRUZ, Bahia. O Material foi disposto na superfície da fita de carbono sobre um Stub (suporte de alumínio) e levadas ao Sputter Coater (Denton Vacuum Desk IV, Moorestown, USA) para metalização com ouro carregado por argônio em alta pressão. Após a metalização, o material foi analisado no microscópio eletrônico de varredura JSM 6390LV (Jeol LTD, Japão), na aceleração 10 kv, Spotsize 35.

#### 3.3.3.8 *Doseamento da vitamina C*

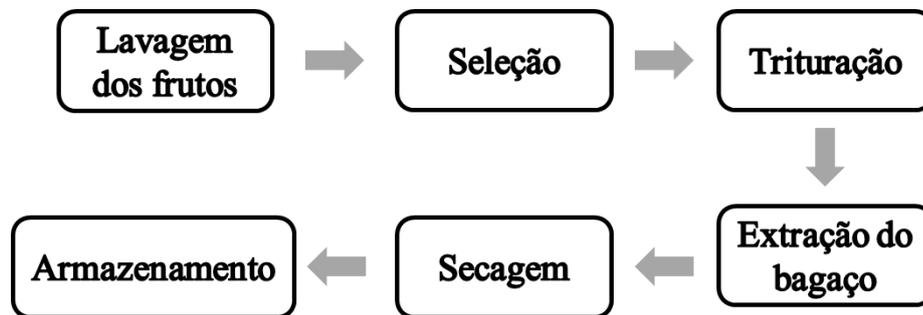
Conforme a metodologia da seção 3.3.1.8.

### **3.3.4 Obtenção e preparo da amostra do bagaço da acerola**

Com o objetivo do reaproveitamento agroindustrial do resíduo da acerola, o presente estudo também objetiva a incorporação do bagaço da acerola ao mérito de seu desenvolvimento. A intenção do uso do caroço da acerola será embasada pela investigação de sua possível funcionalidade como adjuvante farmacotécnico na secagem das polpas da acerola e para a composição da formulação farmacêutica sólida pretendida.

Em conformidade com o fluxograma da obtenção da polpa da acerola (figura 5), a figura 8 ilustra o fluxograma desde a seleção dos frutos da acerola até a obtenção dos bagaços pela indústria fornecedora (LAPON Indústria Farmacêutica Ltda./NIAGRO).

**Figura 8:** Fluxograma referente a obtenção do resíduo da acerola (bagaço) na forma íntegra e triturado.



Fonte: Autoria própria.

Nas etapas de obtenção, a secagem para estabilização dos bagaços da acerola ocorreu pela exposição à luz solar durante três dias. O armazenamento dos bagaços íntegros foi em embalagem laminada contendo sachês de sílica.

#### 3.3.4.1 Obtenção do pó do bagaço da acerola

O bagaço íntegro cedido pela LAPON/NIAGRO foi submetido a moagem em um moinho de facas (Marca SOLAB, modelo SL 31), utilizando inicialmente uma malha com tamanho de orifício de 850 $\mu$ m (20 Mesh). Posteriormente, o pó obtido nessa primeira moagem é submetido novamente ao moinho de facas, mas dessa vez utilizando uma malha com tamanho de orifício 600  $\mu$ m (30 Mesh). O pó do bagaço obtido após a segunda etapa de moagem foi padronizado através da tamisação com tamis de malha com orifícios de 600  $\mu$ m. Após a tamisação, o produto pulverizado foi armazenado em embalagem hermética com a presença de sachês de sílica.

### 3.3.5 Determinações analíticas dos parâmetros físico-químicos do pó do bagaço da acerola

Todas as metodologias das caracterizações físico-químicas para a amostra do bagaço da acerola moído são apresentadas e referenciadas a seguir:

#### 3.3.5.1 pH

Conforme a metodologia da seção 3.4.1.2.

### 3.3.5.2 *Acidez titulável*

Conforme a metodologia da seção 3.4.1.1.

### 3.3.5.3 *Atividade de água*

Conforme a metodologia da seção 3.4.3.5.

### 3.3.5.4 *Teor de umidade por perda por dessecação*

Conforme a metodologia da seção 3.4.3.2.

### 3.3.5.5 *Teor de umidade por termogravimetria (TG)*

Conforme a metodologia da seção 3.4.3.2.

### 3.3.5.6 *Teor de cinzas*

Conforme a metodologia da seção 3.3.1.5.

### 3.3.5.7 *Distribuição granulométrica por tamisação*

A determinação da granulometria foi realizada em triplicata seguindo os critérios da Farmacopeia Brasileira 6ª edição. Foram utilizados 5 tamises que possuíam malhas com abertura nominal de 850µm (20 Mesh), 600µm (30 Mesh), 405 µm (40 Mesh), 250µm (60 Mesh) e 75µm (200 Mesh). Os tamises foram organizados colocando o tamis de maior abertura sobre o de abertura menor. Foram pesados 25g da amostra do bagaço moído de acerola e transferidas para o tamis superior, distribuindo uniformemente o pó. Em seguida, a amostra foi submetida a agitação mecânica utilizando o tamisador (Bertel®) durante 15 minutos. Após o término deste tempo, utilizando um pincel adequado, foi removida toda a amostra retida na superfície superior de cada malha para um papel impermeável, e pesado o pó. O percentual retido em cada tamis, foi calculado utilizando peso da amostra retida em cada tamis em gramas

pela soma dos pesos retidos em cada tamis e coletor em gramas. Foi calculado uma média das amostragens e plotadas em gráfico, utilizando o programa Graphpad®.

### 3.3.5.8 Densidade compactada e aparente

Para o ensaio utilizou-se um compactador automático (Tap Density, Varian®) provido de uma proveta normatizada de 100mL. A proveta foi preenchida com a amostra, o volume inicial e o peso da amostra foram medidos, com posterior medição após 10, 500 e 1250 compactações, repetidas até que a diferença entre as batidas não fosse superior a 2%. A relação entre a massa da amostra e o volume ocupado antes e após a compactação determinou a densidade aparente ( $\rho_a$ ) e a densidade compactada ( $\rho_c$ ), respectivamente (ALVES et al, 2008).

### 3.3.5.9 Caracterização do fluxo de pós: ângulo de repouso, tempo de escoamento, índice de Carr (IC) e fator de Hausner (FH)

Vários métodos são descritos na literatura e padronizados em várias farmacopeias para a determinação da fluidez do leito de pós de uma determinada amostra. Embora não exista um método único e simples para caracterizar corretamente as propriedades de fluxo de pós farmacêuticos, a estratégia mais interessante é usar os múltiplos métodos para caracterizar os vários aspectos do fluxo de pós (AULTON, 2016b). Os métodos indiretos para caracterização do fluxo de pós utilizados nesse estudo são: ângulo de repouso, tempo de escoamento, índice de Carr e fator de Hausner.

O ângulo de repouso foi determinado ao passar cerca de 10 g do extrato seco em funil de altura fixa (10 cm), com diâmetros superior e inferior de 14 e 1 cm, respectivamente, deixando-os cair em uma superfície plana coberta com papel milimetrado. O ângulo de repouso ( $\alpha$ ) é determinado pela equação X:

$$tg(\alpha) = \frac{H}{R} \quad (4)$$

Onde tangente do ângulo obtida pela razão entre o cateto oposto (H = altura) e o cateto adjacente (R = raio do cone formado pelo leito de pó) (USPC, 2020).

O tempo de escoamento foi medido em segundos com auxílio de um cronômetro.

O Índice de Carr (IC), também conhecido como índice de compressibilidade, e o Fator de Hausner (FH) são métodos indiretos utilizados para a determinação das propriedades de

fluxo de pós através da comparação dos dados da densidade aparente e da densidade compactada do pó, sendo o *IC* calculado pela Equação 4:

$$IC = \frac{pc - pa}{pc} \times 100 \quad (5)$$

Sendo: *pc* = densidade compactada; *pa* = densidade aparente.

Valores de *IC* < 10% indicam excelente fluxo; *IC* de 11 a 15% fluxo bom; *IC* de 16 a 20% fluxo fraco; *IC* de 21 a 31% fluxo pobre; *IC* de 16 a 31% fluxo pobre (pós coesivos); e *IC* > 32% fluxo muito pobre (AULTON, 2016b; CARR, 1965; USPC, 2020).

O *FH* é calculado pela equação (5):

$$FH = \frac{\text{densidade compactada (pc)}}{\text{densidade aparente (pa)}} \quad (6)$$

Valores calculados de *FH* entre 1,00 a 1,11 indicam excelente fluxo; entre 1,12 a 1,18 fluxo bom; entre 1,19 a 1,25 fluxo fraco; entre 1,26 a 1,45 fluxo pobre; entre 1,35 a 1,45 fluxo pobre (pós coesivos); e *FH* > 1,50 fluxo muito pobre (AULTON, 2016b; USPC, 2020).

#### 3.3.5.10 Molhabilidade

A molhabilidade foi determinada pelo método do molhamento estático inicialmente descrito por Schubert (1980), mas contando com as adaptações de Gomes, Figueirêdo e Queiroz (2002). Cerca de 1g da amostra é vertido em béquer de 250 ml com 100ml de água a temperatura ambiente. O tempo necessário para o completo desaparecimento do pó da superfície do líquido em repouso é cronometrado. O cálculo da taxa de molhabilidade foi feito através da Equação 7.

$$\text{Taxa de molhabilidade (g. min}^{-1}\text{)} = \frac{N}{t} \quad (7)$$

Em que: *N* é peso em gramas da amostra; e *t* é o tempo em minutos.

#### 3.3.5.11 Solubilidade

A solubilidade (%) foi determinada conforme o método adaptado de Barbosa (2010). O método consiste em adicionar 1,0 g da amostra em 100,0 mL de água destilada sob agitação de 2000 rpm em agitador magnético durante 5 min. A solução foi colocada em tubos e centrifugada a 3000 rpm durante 5 min. Uma alíquota de 25,0 mL do sobrenadante foi transferida para placa de Petri e imediatamente seca em estufa a 105 °C durante 5 horas. A Solubilidade foi calculada a partir das diferenças de peso e expressa em porcentagem (%).

#### *3.3.5.12 Higroscopicidade*

Analizou-se a higroscopicidade conforme metodologia proposta por Cai e Corke (2000), com modificações de Barbosa (2010). As amostras, com aproximadamente 1g cada, foram colocadas em um recipiente hermético contendo uma solução saturada de NaCl (umidade relativa de 75,29%) a 25 °C e, após uma semana foram pesadas, sendo a higroscopicidade expressa como g de umidade adsorvida por 100 g de massa seca da amostra ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ).

#### *3.3.5.13 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

Conforme a metodologia da seção 3.4.3.8, com as análises sendo feitas no equipamento pertencente ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA).

### **3.3.6 Desenvolvimento farmacotécnico preliminar do comprimido mastigável e seu controle de qualidade**

Para o desenvolvimento preliminar do comprimido mastigável, a tabela 5 apresenta a composição quali-quantitativa do protótipo contendo o líofilo da polpa da acerola como insumo ativo e a inovadora presença do bagaço da acerola em sua composição. A escolha dos demais excipientes e suas respectivas proporções na formulação foi embasada na análise de comprimidos mastigáveis desenvolvidos e patenteados na literatura. A obtenção dos comprimidos mastigáveis ocorreu por compressão pela via direta.

O líofilo da acerola após pulverização por maceração e os excipientes foram pesados e, posteriormente, a mistura foi realizada em saco plástico com mistura manual por 5 minutos. Os comprimidos foram obtidos em compressora rotativa (Neuberger, MN-16) com punções circulares de aço inoxidável de 14 mm de diâmetro. Os comprimidos foram armazenados em

recipientes hermeticamente fechados contendo sachês de sílica e purgados com nitrogênio na forma de gás para induzir o deslocamento do oxigênio presente no ambiente da embalagem.

**Tabela 5:** Composição quali-quantitativa do protótipo do comprimido mastigável contendo o líofilo e o bagaço da acerola.

<b>Formulação</b>		
<b>Insumo</b>	<b>Categoria/Funcionalidade</b>	<b>Porcentagem na formulação</b>
<b>Líofilo (vitamina C)</b>	Insumo farmacêutico ativo	77%
<b>Bagaço da acerola</b>	-	10%
<b>Manitol</b>	Diluente e edulcorante	10%
<b>Estearato de magnésio</b>	Lubrificante	2%
<b>Dióxido de silício coloidal</b>	Otimizador da fluidez e desintegrante	1%

Fonte: Autoria própria.

A funcionalidade do bagaço da acerola como adjuvante componente da formulação sólida será investigada e definida com as informações obtidas no decorrer do desenvolvimento desse trabalho.

### 3.3.6.1 Determinação do peso médio

A determinação do peso médio dos comprimidos foi realizada conforme preconizado pela farmacopeia brasileira. Os comprimidos mastigáveis íntegros foram avaliados individualmente, em balança analítica. O limite de variação permitido se o peso médio for menor ou igual a 80mg, é  $\pm 10\%$ , entre 80 e 250mg é  $\pm 7,5\%$  e maior ou igual a 250mg é  $\pm 5\%$  (BRASIL, 2018).

### 3.3.6.2 Determinação da resistência mecânica: teste de dureza

O teste de dureza permite determinar a resistência do comprimido ao esmagamento ou sob tensão radial. A dureza de um medicamento certifica a integridade do comprimido,

permitindo que ele suporte choques causados durante os processos pós-fabricação. Os comprimidos são testados, individualmente, nas mesmas condições. O resultado do teste é informativo e expresso como a média dos valores obtidos nas determinações. Houve também a análise visual do comprimido mastigável, identificando a presença de rachaduras, gravações e uniformidade de coloração.

### *3.3.6.3 Determinação da resistência mecânica por desgaste: teste de friabilidade*

O teste de friabilidade permite determinar a resistência dos comprimidos ao desgaste, quando submetidos à ação mecânica de aparelhagem específica. O teste consiste na pesagem, com exatidão, de um número determinado de comprimidos, submetê-los à ação do aparelho e retirá-los depois de efetuadas 100 rotações. Após a remoção de qualquer resíduo de pó dos comprimidos, com auxílio de pinça e pincel, eles são novamente pesados. A diferença entre o peso inicial e o final representa a friabilidade, com medição em função de percentual de massa. A diferença entre o peso inicial e o peso final (perda) deve ser igual ou inferior a 1,5% do seu peso (BRASIL, 2019).

# **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa etapa do trabalho estão apresentados os resultados de caracterização das diferentes polpas da acerola e de seus respectivos produtos liofilizados mediante otimização dos parâmetros de secagem com o intuito do desenvolvimento de comprimidos mastigáveis.

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS POLPAS DA ACEROLA

Macroscopicamente, as polpas da acerola que irão servir como matéria-prima para a obtenção dos líofilos, possuíam características diferentes entre si em termos de textura, sabor e cor. A tabela 6 resume as principais características macroscópicas e sensoriais observadas para as polpas da acerola *in natura*.

**Tabela 6:** Características das polpas recebidas.

Características	° Brix 7,12	° Brix 21,61	° Brix 50,5
Cor	Alaranjado claro	Alaranjado escuro	Marrom escuro
Aspecto	Fluido	Pastoso (Purê)	Líquido

**Fonte:** Autoria própria.

A polpa de ° BRIX 7,12 possui aspecto fluido e a cor laranja claro que são característicos do suco do fruto da acerola *in natura* (SANTOS, 2014). A polpa de BRIX 21,61°, ao passar pelo processo de concentração segundo o fluxograma de obtenção (figura 5), tomou o aspecto de um purê com coloração alaranjada mais escura. A polpa com BRIX 50,5° foi ainda mais concentrada em seu processo de obtenção, adquirindo um aspecto de extrato fluido consistente, semelhante a um xarope, com uma coloração bem escura. O sabor característico ácido é consideravelmente mais forte nas polpas mais concentradas, no qual, em termos de sensação de acidez em ordem decrescente: ° BRIX 50,5 > ° BRIX 21,61 > ° BRIX 7,12.

#### 4.1.1 Caracterização físico-química

Na tabela 7 estão apresentados os resultados das análises físico-químicas realizadas para nas diferentes polpas da acerola em termos de conteúdo de sólidos solúveis (° Bx).

**Tabela 7:** Características físico-químicas das polpas da acerola com diferentes °Brix.

Características	° Brix 7,12	° Brix 21,61	° Brix 50,5
<b>pH</b>	3,14* ± 0,06	3,03* ± 0,03	3,09* ± 0,01
<b>Vitamina C (mg/100g)</b>	1234,46* ± 0	2132,62* ± 265	11207,92* ± 149,8
<b>Umidade (%)</b>	92,90* ± 0,15	79,30* ± 1,60	55,42* ± 0,22
<b>Sólidos totais (g.100g<sup>-1</sup>)</b>	7,09* ± 0,15	20,69* ± 1,60	44,57 ± 0,22
<b>Cinzas (%)</b>	0,46 ± 0,02	1,18* ± 0,13	--
<b>Acidez titulável (%Ácido cítrico)</b>	1,28* ± 0,09	3,52* ± 0,05	9,12* ± 0,11
<b>Densidade relativa (g/mL)</b>	1,24* ± 0	1,09* ± 0	1,02* ± 0

\*Média das três repetições ± desvio padrão

--Amostra carameliza muito.

**Fonte:** Autoria própria.

Essas caracterizações são de grande importância para a certificação dos padrões de identidade e qualidade da matéria-prima. Analisando os dados referente a polpa da acerola *in natura* (° Brix 7,12), os valores estão em consonância com dados de caracterizações de polpas e sucos de acerola *in natura* encontrados na literatura e, principalmente, com os parâmetros analíticos de padrão de identidade e qualidade fixados para a polpa de acerola segundo o anexo II da Instrução Normativa nº 37 de outubro de 2018 do MAPA (BRASIL, 2018; SANTOS, 2014).

É notório que no processo de obtenção da polpa da acerola (figura 5), a etapa de concentração do insumo reduz proporcionalmente o teor de água e concentra os valores dos demais componentes sólidos solúveis e suspensos na matriz da polpa, fator que auxilia na conservação da matéria-prima pela redução da atividade de água, além de fornecer, por exemplo, uma maior proporção de vitamina C por massa de insumo (REIS et al., 2017). Curiosamente, na obtenção dos valores de resíduo por incineração (cinzas), quando a amostra da polpa de Brix 50,5° foi submetida ao aquecimento, o material entrou em expansão devido provavelmente ao processo de caramelização.

Os resultados da tabela 6 mostram que as polpas de Brix 7,12°, 21,61° e 50,5° tem uma composição de água, respectivamente de 92,90%, 79,30% e 55,42%. A redução do teor de água entre as amostras de polpas, ocasiona no aumento no teor de acidez dos insumos em termos de ácido cítrico e também de vitamina C (ácido ascórbico), esse aumento na sensação da acidez deverá refletir na escolha do tipo de insumo que será utilizado no desenvolvimento farmacotécnico da forma farmacêutica sólida pretendida.

Todas as amostras de polpa de acerola apresentaram valores de pH abaixo de 4, o que caracteriza a acerola como alimento ácido. Os valores de densidade relativa também foram bem semelhantes entre as polpas analisadas, especificamente, a densidade da polpa de ° Brix 7,12 (1,24 g/mL) foi bem próxima ao valor encontrado por Júnior (2018) (1,03 g/mL) em seu estudo de secagem da polpa de acerola.

Ainda tomando os valores característicos da polpa de ° Brix 7,12 como referência a título de comparação com os demais resultados encontrados na literatura, no que diz respeito aos dados do doseamento, a quantidade em miligramas de vitamina C por 100 gramas de amostra da polpa obtida no doseamento foi de 1234,46, valor que está dentro do limite mínimo e máximo de vitamina C na acerola amplamente relatados na literatura, sendo de 862.86 e 1465.22mg/100g, respectivamente (MOURA et al., 2018). O valor obtido no doseamento pelo método de Tillmans está bem próximo aos resultados do estudo de Júnior (2018), no qual obteve um quantitativo de 1344,77 mg/100g. O resultado também está acima do limite mínimo aceitável de vitamina C preconizados no Brasil pela IN 37/2018, certificando o padrão analítico da amostra (BRASIL, 2018).

Como já abordado, na obtenção das polpas, os processos de concentração e pasteurização elevam os valores de vitamina C por massa de matéria-prima e, por isso, os valores doseados para as polpas de ° Brix 21,61 e 50,5 foram maiores, sendo de 2132,62 e 11207,92 mg/100g, respectivamente. Mesmo com ótimos resultados de doseamento, era esperado que esses valores concentração de Vitamina C fossem maiores, visto que no processamento das polpas são utilizadas acerolas em seu estado imaturo, no qual a concentração de vitamina C pode chegar até 2164 mg/100g (VENDRAMINI; TRUGO, 2000).

Vários são os fatores que influenciam o teor de vitamina C em acerola, o que inclui o próprio estado de maturação do fruto, afinal, o processo de maturação promove mudanças bioquímicas na matriz do fruto induzindo a própria degradação oxidativa da vitamina C. Outros fatores relevantes são: a localização geográfica; clima; práticas de cultivo; características genéticas; exposição a fatores externos como a luz solar; práticas de cultivo; e o armazenamento (MACIEL et al., 2010; VENDRAMINI; TRUGO, 2000; YAMASHITA et al., 2003). O próprio

processamento do fruto na produção da polpa é um importante fator influente no teor de vitamina C. Todas as operações unitárias utilizadas para a obtenção das polpas e que estão representadas no fluxograma da figura 5, contribuem em certo grau na redução do teor de vitamina C no fruto da acerola, visto que a vitamina C é uma molécula altamente sensível à oxidação, radiação ultravioleta e altas temperaturas (HERBIG; RENARD, 2017).

O próprio mérito da metodologia titulométrica de doseamento também influencia diretamente nos valores obtidos. Mesmo que o método de Tillmans seja um dos métodos mais confiáveis, rápidos e de baixo custo para a determinação em matrizes alimentícias, sendo inclusive o método oficial da Associação dos Químicos Analíticos Oficiais, ele apresenta variantes importantes que interferem de maneira qualiquantitativa nos valores de doseamento (AOAC, 2002; OLIVEIRA; GODOY; PRADO, 2010). Majoritariamente, o principal limitante da metodologia de doseamento utilizada nesse trabalho está na solução usada para a extração da vitamina C da matriz da polpa da acerola. A solução de extração teve o ácido metafosfórico como substância extratora e estabilizante, visto que sua presença na solução de extração mantém o pH ácido auxiliando na preservação da vitamina. A disponibilidade da vitamina C para oxidar o titulante e ser então doseada, depende diretamente da eficiência de sua extração da matriz alimentícia (OLIVEIRA; GODOY; PRADO, 2010).

Portanto, o tempo de contato entre a polpa da acerola e a solução de extração é crucial para a qualidade do doseamento. Um tempo de contato curto pode representar uma extração insuficiente, contudo, prolongar por muito tempo esse contato favorece a degradação não só da própria vitamina C como do ácido metafosfórico que tem sua estabilidade comprometida com o tempo, sendo crucial encontrar o tempo de contato perfeito entre a solução de extração e amostra analisada. Na metodologia de doseamento utilizada nesse estudo, o tempo de contato das amostras de polpa de acerola com a solução extratora (ácido metafosfórico %) foi de dois minutos, tempo bem semelhante aos cinco minutos de contato pelo método de Oliveira, Godoy e Prado (2010), que utilizou uma solução de extração com ácido metafosfórico 1% ao dosear a vitamina C em geleias.

Outra limitação importante na metodologia utilizada é o exato ponto de virada da titulação. Mesmo que a adaptação na metodologia, ao inverter a posição do titulante e do titulado, favoreça a visualização do ponto de virada colorimétrico, a coloração da amostra ainda representa um fator que influencia da perfeita detecção do exato ponto de virada. Essa “incerteza” justifica o alto desvio padrão obtido ao analisar os valores da triplicata referente ao doseamento para cada amostra de polpa.

## 4.2 ESTUDOS DA SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO DE DIFERENTES POLPAS DA ACEROLA E CARACTERIZAÇÕES DOS LIÓFILOS

A influência da concentração de sólidos solúveis (°BRIX) das amostras das polpas, o tipo de congelamento e o tempo de secagem por sublimação foram avaliadas sobre as diferentes características dos liófilos obtidos, com o intuito da seleção dos melhores parâmetros para o método de secagem na posterior preparação da forma farmacêutica sólida. Através das caracterizações foram feitas triagens para a seleção dos melhores liófilos. Nem todas as caracterizações foram possíveis de serem realizadas com todos os liófilos obtidos por causa de suas respectivas características físico-macroscópicas.

### 4.2.1 Influência da concentração de sólidos solúveis na aparência do produto submetido a liofilização

As amostras resultantes dos ciclos de secagem por liofilização (tabela 8) revelaram aspectos macroscópicos singulares quando comparadas em relação ao Brix e ao tempo de secagem (tabela 9). Com os tempos de secagem testados (24 e 48 horas), nem todas as amostras resultaram em produtos secos o suficiente para possibilitar a sua pulverização através do processo de maceração em almofariz e pistilo, processo necessário para o prosseguimento das caracterizações e processos pós-secagem.

Através de análise macroscópica, foi possível verificar que as amostras de polpa com Brix 7,12° (figura 9) necessitam de um maior tempo de liofilização para formarem um produto mais seco passível de maceração. Apenas as amostras submetidas previamente ao congelamento criogênico utilizando nitrogênio líquido possibilitaram, após sua secagem por liofilização, um produto desidratado passível de maceração tanto com o tempo de sublimação 24 horas como de 48 horas. As amostras com tempo de secagem de 24 horas (24B7U, 24B7R e 48B7U) não secaram de forma satisfatória, apresentando um aspecto uniforme, macio e contínuo, mas com dificuldades para maceração.

Ademais, todos os liófilos obtidos da polpa com Brix 7,12° apresentavam-se com um aspecto bastante higroscópico e com características físicas ruins para serem expostos ao ambiente para futuras operações unitárias como a compressão (AULTON, 2016b, MORAES et al., 2017). A escolha dos tempos de secagem (24 e 48 horas) foi embasada pelos estudos de Moraes et al. (2017) e Righetto (2003) que também obtiveram produtos secos bastante higroscópicos após 48 horas de tempo de sublimação, representando um aspecto negativo

quanto a estabilidade do líófilo. Os intervalos de tempo de secagem selecionados também foram embasados para a possibilidade de uma futura de transferência de tecnologia para a indústria, que demanda processos rápidos e simples.

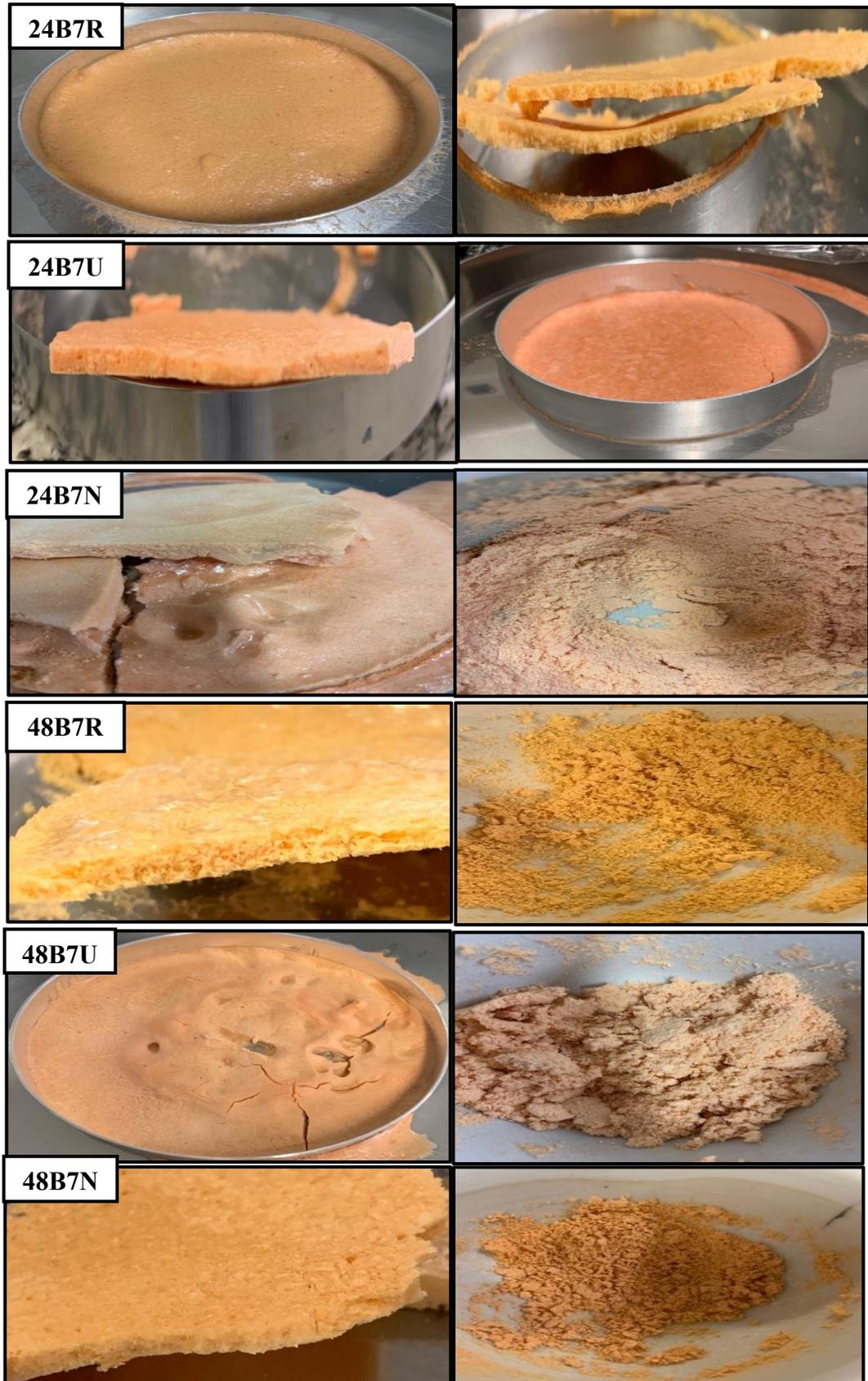
**Tabela 8:** Resultados dos ciclos de secagem por liofilização das amostras das diferentes polpas da acerola.

<b>°Brix</b>	<b>Condições de congelamento</b>	<b>Tempo de processo de secagem (horas)</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado da secagem</b>
7,12	Ultrafreezer	48	<b>48B7U</b>	Não
7,12	Ultrafreezer	24	<b>24B7U</b>	Não
7,12	Refrigerador	48	<b>48B7R</b>	<b>Sim</b>
7,12	Refrigerador	24	<b>24B7R</b>	Não
7,12	Nitrogênio	48	<b>48B7N</b>	<b>Sim</b>
7,12	Nitrogênio	24	<b>24B7N</b>	<b>Sim</b>
21,61	Ultrafreezer	48	<b>48B21U</b>	<b>Sim</b>
21,61	Ultrafreezer	24	<b>24B21U</b>	<b>Sim</b>
21,61	Refrigerador	48	<b>48B21R</b>	<b>Sim</b>
21,61	Refrigerador	24	<b>24B21R</b>	Não
21,61	Nitrogênio	48	<b>48B21N</b>	<b>Sim</b>
21,61	Nitrogênio	24	<b>24B21N</b>	<b>Sim</b>
50,5	Ultrafreezer	48	<b>48B50U</b>	<b>X</b>
50,5	Ultrafreezer	24	<b>24B50U</b>	<b>X</b>
50,5	Refrigerador	48	<b>48B50R</b>	<b>X</b>
50,5	Refrigerador	24	<b>24B50R</b>	<b>X</b>
50,5	Nitrogênio	48	<b>48B50N</b>	<b>X</b>
50,5	Nitrogênio	24	<b>24B50N</b>	<b>X</b>

X: amostras que não chegaram a congelar.

Fonte: Autoria própria.

**Figura 9:** Análise macroscópica das amostras de extrato da acerola (Brix 7,12°) submetidas a liofilização em diferentes tempos de secagem.

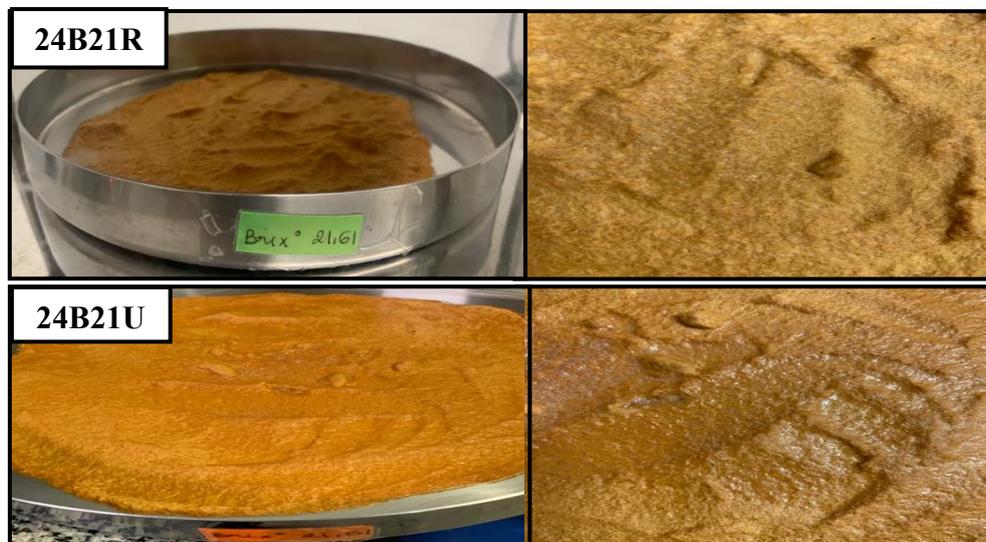


Fonte: Autoria própria.

Já as amostras com maior concentração de sólidos solúveis (Brix 21,61°) apresentaram-se após todos os seus ciclos de liofilização (tabela 3), viáveis para maceração (figura 10), apenas com a exceção da amostra previamente congelada por refrigeração e seca por 24 horas (24B7R). No entanto, os demais líofilos obtidos, resultantes das diferentes formas de congelamento, demonstram variações notáveis durante a manipulação, como a formação de um *caking* pegajoso, aderência ao pistilo, resistência do bolo liofilizado a maceração e a fluidez da amostra.

Para as amostras dos líofilos obtidos da amostra da polpa previamente submetida ao congelamento em refrigerador, apenas a amostra seca com 48 horas de processo de sublimação mostrou-se possível de ser pulverizada, mas com uma tendência maior para a formação de *caking*, quando comparada aos seus pares (48B21U, 48B21N), ou seja, também secas com tempo de 48 horas, mas que tiveram o seu pré-processamento através do congelamento utilizando o ultrafreezer e nitrogênio líquido, respectivamente. De forma abrangente, os líofilos oriundos do congelamento por nitrogênio (24B7N, 48B7N, 24B21N e 48B21N) também diferiram entre si da mesma forma, com as amostras de menor Brix (7,12) e secas em menor tempo de sublimação (24 horas) apresentando uma maior tendência a formação de *caking* quando comparados àqueles com maior concentração de sólidos solúveis e secos com o dobro do tempo (48 horas).

**Figura 10:** Análise macroscópica das amostras de extrato da acerola (Brix 21,61°) submetidas a liofilização em diferentes tempos de secagem.





Fonte: Autoria própria.

Após a análise dos ciclos de liofilização, foram as amostras secas a partir de polpas com Brix 21,61° que apresentaram as melhores características físicas, e possibilidade de sua pulverização por maceração. Comparando os dois melhores liófilos derivados da polpa de Brix 21,61° ambos secos no tempo de 48 horas, especificamente a 48B21U e 48B21N, foi perceptível uma leve vantagem para o liófilo que passou pelo pré-tratamento no ultrafreezer, em relação ao liófilo que passou pelo congelamento criogênico, visto que o primeiro equivalia a um produto mais quebradiço e facilmente convertido em pó. No completo estudo da secagem da acerola por liofilização realizado por Marques, Ferreira e Freire (2007), eles concluíram que o congelamento mais lento, como no caso do ultrafreezer, leva a uma melhor formação dos

cristais de gelo facilitando a transferência de calor para a amostra congelada no processo de secagem por sublimação, diferentemente de um congelamento mais rápido, como é o caso do uso do nitrogênio líquido.

Para as amostras de polpa de acerola com concentração de sólidos solúveis (Brix 50,5°), não foi possível realizar o congelamento prévio necessário por nenhum dos métodos de congelamento, muito provavelmente pela alta proporção de sólidos dissolvidos na matriz da polpa concentrada, o que reduz a temperatura necessária e/ou aumenta o intervalo de tempo para o seu congelamento total (FERNANDES et al., 2008).

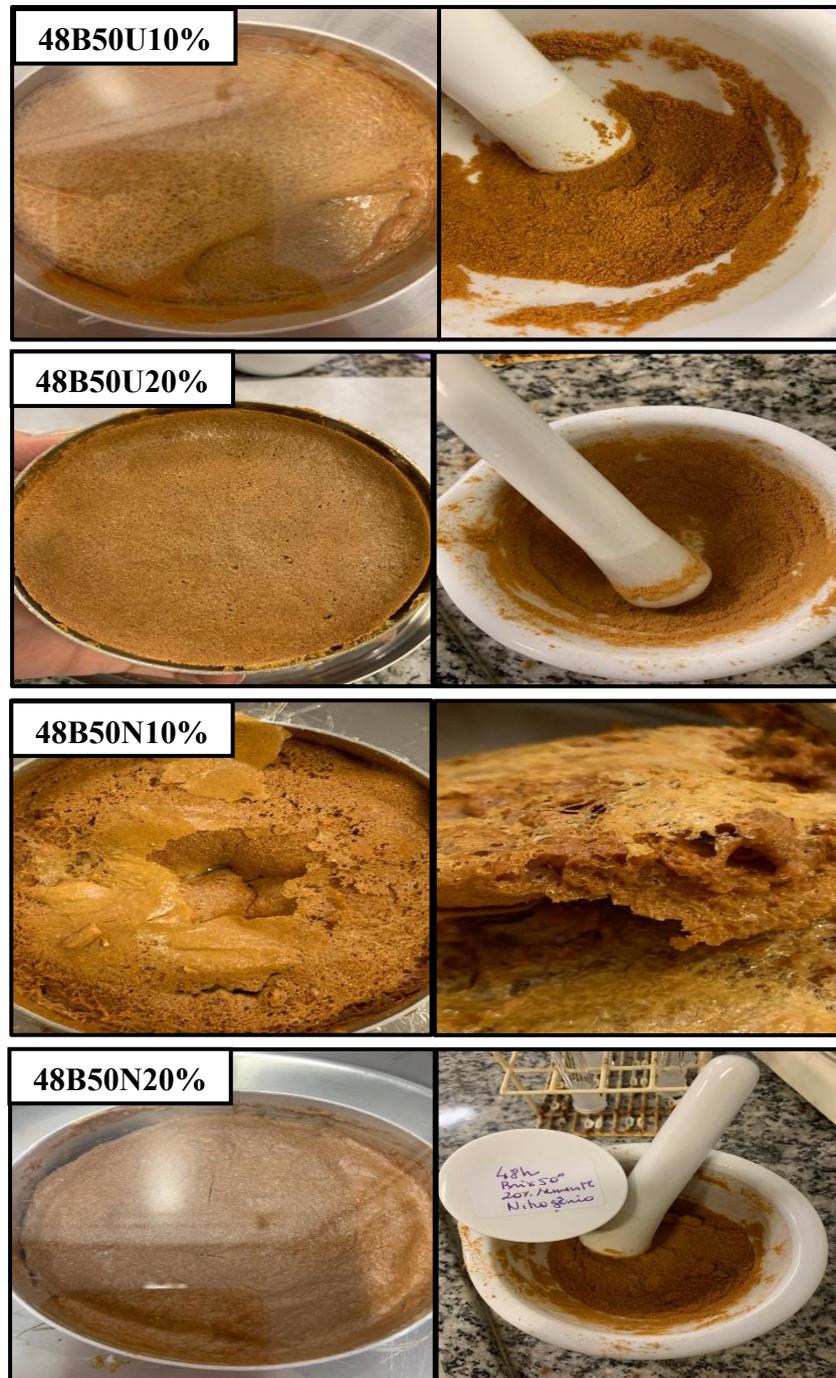
Contudo, o congelamento foi alcançado quando adicionamos por mistura simples na amostra da polpa concentrada, uma porcentagem (10 % e 20%) (p/p) do bagaço da acerola pulverizado em moinho de facas. Por eliminação, para o congelamento da polpa de Brix 50,5° contendo as porcentagens do bagaço moído (tabela 9), retiramos o congelamento pelo refrigerador dos ciclos de congelamento/liofilização devido a ineficácia desse método de congelamento para o processamento dessa amostra específica. Os líofilos obtidos estão apresentados na figura 11 recebendo seus códigos de identificação.

**Tabela 9:** Resultados dos ciclos de secagem por liofilização das amostras das polpas de Brix 50,5° com adição do bagaço da acerola.

<b>°Brix</b>	<b>Condições de congelamento</b>	<b>Tempo de processo de secagem (horas)</b>	<b>Porcentagem de bagaço</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado da secagem</b>
<b>50,5</b>	Ultrafreezer	48	10	<b>48B50U10%</b>	<b>Sim</b>
<b>50,5</b>	Ultrafreezer	24	10	<b>24B50U10%</b>	Não
<b>50,5</b>	Nitrogênio	48	10	<b>48B50N10%</b>	Não
<b>50,5</b>	Nitrogênio	24	10	<b>24B50N10%</b>	Não
<b>50,5</b>	Ultrafreezer	48	20	<b>48B50U20%</b>	<b>Sim</b>
<b>50,5</b>	Ultrafreezer	24	20	<b>24B50U20%</b>	<b>Sim</b>
<b>50,5</b>	Nitrogênio	48	20	<b>48B50N20%</b>	<b>Sim</b>
<b>50,5</b>	Nitrogênio	24	20	<b>24B50N20%</b>	Não

Fonte: Autoria própria.

**Figura 11:** Análise macroscópica das amostras de extrato da acerola (Brix 50,5°) submetidas a liofilização em diferentes tempos de secagem.



Legenda: **48B50U10%** = Liófilo da polpa de Brix 50,5 com 10% do bagaço da acerola obtido no tempo de secagem por 48 horas da amostra congelada em ultrafreezer;  
**48B50N10%** = Liófilo da polpa de Brix 50,5 com 10% do bagaço da acerola obtido no tempo de secagem por 48 horas da amostra congelada com nitrogênio líquido;  
**48B50U20%** = Liófilo da polpa de Brix 50,5 com 20% do bagaço da acerola obtido no tempo de secagem por 48 horas da amostra congelada em ultrafreezer;  
**48B50N20%** = Liófilo da polpa de Brix 50,5 com 20% do bagaço da acerola obtido no tempo de secagem por 48 horas da amostra congelada com nitrogênio líquido;

Fonte: Autoria própria.

Após os ciclos de liofilização, tanto as amostras contendo 20% de bagaço que foram pré-tratadas através do congelamento em ultrafreezer quanto ao congelamento criogênico resultaram em líofilos suficientemente secos após 48 horas de tempo de sublimação, possibilitando a sua maceração. Macroscopicamente, esses líofilos (48B50U20% e 48B50N20%) apresentavam-se um pouco menos higroscópico que os líofilos obtidos das polpas de Brix 21,61°. Para as amostras também da polpa de Brix 50,5°, mas com 10% (p/p) do bagaço, apenas àquelas submetidas ao congelamento por ultrafreezer resultou pós-liofilização em um produto viável para a maceração. Já a amostra a obtida mediante nitrogênio gerou um bolo liofilizado com um *caking* úmido e pegajoso.

A presença do bagaço da acerola foi essencial para a obtenção de um líofilo a partir da polpa concentrada (Brix 50,5°) possibilitando sua secagem pelo processo de liofilização para a obtenção de sua forma seca. Aparentemente, o produto liofilizado contendo o bagaço da acerola em sua composição atribui uma estabilidade ao líofilo em termos de higroscopicidade, algo bem semelhante com a função do óxido de magnésio ou do dióxido de silício coloidal, usados como excipiente para melhorar a estabilidade e fluidez de pós muito higroscópicos, ou pelo uso de agentes microencapsulantes de secagem como a goma arábica. Com o objetivo da redução da higroscopicidade dos líofilos das polpas da acerola, é justificável o uso do bagaço da acerola como um agente estabilizante, principalmente porque produtos liofilizados são comumente bastante higroscópicos pela sua alta concentração de açúcares e ácidos de baixo peso molecular que interagem fortemente com as moléculas de água (AULTON, 2016b; MORAES et al., 2017).

Analisando a coloração de todos os líofilos de todos os ciclos de liofilização, independente do método de secagem empregado, após a totalidade do processo, os líofilos resultantes mantiveram a coloração característica da sua respectiva matéria-prima (polpa), o que sugere a preservação da constituição dos componentes químicos da polpa da acerola, não sendo necessário a inclusão de crioprotetores, ou seja, de substâncias que protegem o material em análise do estresse mecânico causado pela cristalização durante a etapa de congelamento, já que os monossacarídeos e dissacarídeos presentes na polpa da acerola funcionam como crioprotetores (BRANDÃO et al., 2013; SILVA et al., 2014).

A morfologia do bolo liofilizado está intimamente relacionada com a aparência, umidade residual e tempo de reidratação. Nesse estudo, verificamos que o tempo de 24 horas é insuficiente para a secagem das amostras de polpas de acerola independente da sua concentração de sólidos solúveis e do método de congelamento prévio empregado. Com o decorrer do processo de secagem, a polpa trona-se mais compacta, aumentando a resistência da

amostra à transferência de massa (MARQUES; FERREIRA; FREIRE, 2007). O resultado do tempo insuficiente de transferência de calor para a secagem de polpas de frutas, resulta em bolo liofilizado que demanda de uma alta necessidade de energia para conseguir ser pulverizados (OYINLOYE; YOON et al., 2020).

#### **4.2.2 Influência da concentração de sólidos solúveis e do método de congelamento no tamanho de partícula do liófilo**

Foram submetidos às análises de tamanho de partícula por granulometria à laser, os liófilos que não apresentaram formação de *caking* após aproximadamente 2 meses de armazenamento em dessecador contendo sílica em pérolas. Todos os resultados da análise do tamanho das partículas de todos os liófilos analisados constam na tabela 10 e com mais detalhes de informações na figura 12. Os resultados de tamanho de partícula possibilitaram verificar que liófilos obtidos da polpa de Brix 7,12° obtidos em ciclo de secagem por 48 horas apresentaram tamanho de partícula médio ( $\mu\text{m}$ ) maior do que os de Brix 21,61° submetidos ao mesmo tempo de secagem (tabela 10).

A análise dos dados do tamanho de partícula médio ( $\mu\text{m}$ ) dos liófilos obtidos de uma mesma amostra, como o de Brix 21,61°, por exemplo, possibilitam verificar que o pré-tratamento por congelamento do material através do nitrogênio propiciou a posterior formação de partículas menores quando comparadas com as amostras que previamente passaram pelo congelamento via refrigerador e ultrafreezer. Além disso, ao verificarmos os resultados dos liófilos obtidos da amostra com Brix 7,12° com congelamento via nitrogênio (tabela 10) nota-se um menor tamanho de partícula obtido com o maior tempo de secagem, corroborando o tempo de 48 horas de sublimação como o mais positivo para uma eficiente no processo de transferência de calor para as partículas congeladas.

**Tabela 10:** Resultado do tamanho médio de partícula dos diferentes liófilos.

<b>°Brix</b>	<b>Condições de congelamento</b>	<b>Tempo de processo de secagem (horas)</b>	<b>Código</b>	<b>Resultado do tamanho de partícula</b>
<b>7,12</b>	Ultrafreezer	48	<b>48B7U</b>	-
<b>7,12</b>	Ultrafreezer	24	<b>24B7U</b>	-
<b>7,12</b>	Refrigerador	48	<b>48B7R</b>	<b>127,72*</b>
<b>7,12</b>	Refrigerador	24	<b>24B7R</b>	-
<b>7,12</b>	Nitrogênio	48	<b>48B7N</b>	<b>161,9*</b>
<b>7,12</b>	Nitrogênio	24	<b>24B7N</b>	<b>426,9*</b>
<b>21,61</b>	Ultrafreezer	48	<b>48B21U</b>	<b>80,31</b>
<b>21,61</b>	Ultrafreezer	24	<b>24B21U</b>	<b>64,11</b>
<b>21,61</b>	Refrigerador	48	<b>48B21R</b>	<b>74,35</b>
<b>21,61</b>	Refrigerador	24	<b>24B21R</b>	-
<b>21,61</b>	Nitrogênio	48	<b>48B21N</b>	<b>69,2</b>
<b>21,61</b>	Nitrogênio	24	<b>24B21N</b>	<b>94,24</b>

\*Tamanho da partícula em  $\mu\text{m}$ .

Fonte: Autoria própria.

Curiosamente, entre os liófilos do Brix 7,12° secos com tempo de 48 horas, o tamanho de partícula dos que foram obtidos da polpa congelada em refrigerador foram menores que o tamanho dos liófilos provenientes do congelamento criogênico. Esse fato difere dos achados da literatura, no qual liófilos obtidos de amostras congeladas de uma forma mais rápida (nitrogênio líquido) normalmente são formadas por partículas menores que liófilos derivados de um produto congelado mais lentamente e em temperatura não tão baixa (CAPOZZI; PISANO, 2018; OYINLOYE; YOON et al., 2020). Provavelmente, a amostra do liófilo derivada do criocongelamento, durante o seu tempo de armazenamento, adsorveu muito mais a umidade do ambiente promovendo aglomerações entre suas partículas com maior área de superfície para contato.

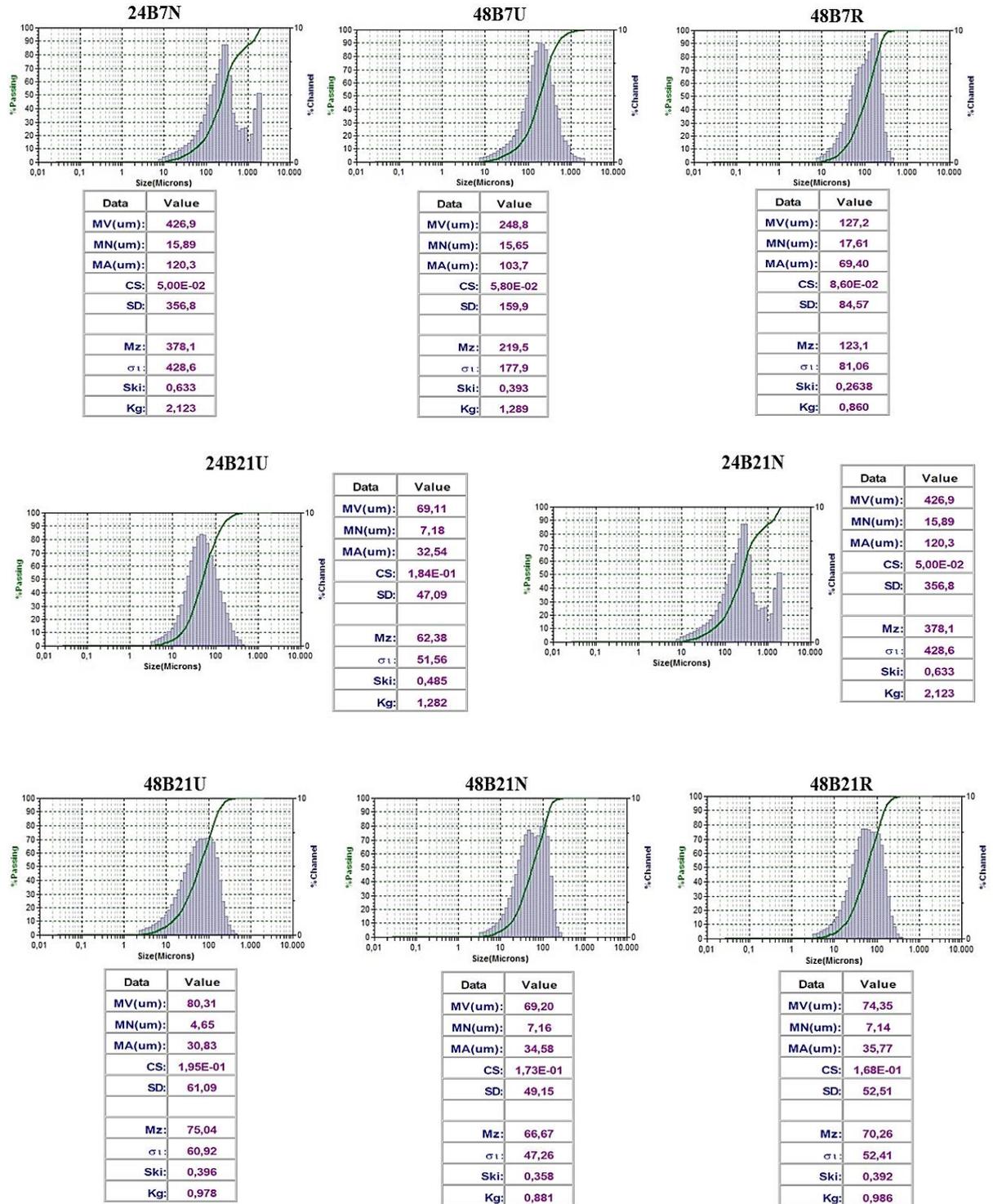
Outra diferença interessante foi observada entre as amostras de Brix 21,61° congeladas por ultrafreezer e por nitrogênio, ambas secas no período de 24h. O tamanho da partícula dos liófilos obtidos da amostra congelada em ultrafreezer foi menor que o tamanho dos liófilos obtidos da amostra congelada em nitrogênio, o que vai de encontro com os achados da literatura,

que normalmente amostras congeladas de forma mais rápida geram liófilos com tamanho de partículas menores (CAPOZZI; PISANO, 2018; MARQUES et al., 2007).

Provavelmente, o curto de tempo de sublimação impactou na formação da partícula do liófilo, já que a nucleação e o crescimento de liófilos resultantes de amostras congeladas de forma rápida, ocorre de dentro para fora, e possivelmente a transferência de calor não foi suficiente para a perfeita formação da partícula do liófilo. Já a formação de liófilos de amostras congeladas de forma mais lenta, ocorre do meio externo para o meio interno, e isso pode ter sido um fator determinante para a redução da camada de gelo envolto da amostra via transferência de massa de calor (OYINLOYE; YOON et al., 2020). Outra possibilidade pode ser sugestiva de uma maior captação de água pelo liófilo da amostra criogenada, isso pode ter levado a formação de aglomerações (*caking*) e, conseqüentemente, aumentando o tamanho da partícula.

De fato, o tipo de congelamento apresenta impacto significativo nas características do produto, sendo um ponto chave para a produção de produtos secos e estáveis. A velocidade de congelamento está intimamente relacionada com o tamanho dos cristais de gelo que são formados no produto. Portanto, variações na temperatura de congelamento (nucleação/crescimento) podem estar relacionadas a heterogeneidade de amostra para amostra, visto que a cinética de congelamento também exerce influência na redistribuição e estabilidades dos componentes (CAPOZZI; PISANO, 2018; GOSHIMA; DO; NAKAGAWA, 2016).

Figura 12: Resultado detalhado do tamanho médio dos líofilos.



Legenda: **MV** = diâmetro médio, em micrometro, da distribuição em volume; **MA** = diâmetro médio, em micrometro, da distribuição em área; **MN** = diâmetro médio, em micrometro, da distribuição em número; **CS** = área superficial específica, em metro quadrado por mL; **SD** = desvio padrão, em micrometro; **Mz** = média do gráfico, em micrometro;  $\sigma$  = desvio padrão do gráfico, em micrometro; **Ski** = gráfico skewness; **Kg** = gráfico Kurtosis.

Fonte: Autoria própria.

As diferentes formas de congelamento associado com as diferenças em termos de concentração de sólidos solúveis (Brix) das amostras contribuem com a variabilidade nas características dos líofilos obtidos nesse estudo (CAPOZZI; PISANO, 2018).

A riqueza em sólidos solúveis da polpa de fruta atua como o fator principal para a mudança de comportamento das amostras durante o ciclo de secagem por liofilização. Como já abordado anteriormente, os açúcares comumente usados como crioprotetores atuam na otimização do tamanho de partícula por meio da determinação adequada de sua concentração, bem como da escolha do tipo de congelamento em diferentes períodos de tempo, visto que o procedimento do congelamento afeta a estrutura cristalina e as características do liofilizado (IBRAHIM et al., 2019; VARSHOSAZ; ESKANDARI; TABBAKHIAN, 2012).

Em estudos de otimização de produtos liofilizados foram verificaram que a presença de açúcares nas amostras, frequentemente utilizados como crioprotetores (glicose, sacarose, manitol e trealose), propiciam a homogeneidade do tamanho das partículas quando presente em quantidade otimizada para cobertura total da superfície das partículas em análise, favorecendo, dessa maneira, a estabilização e o impedimento da aglomeração que contribui com o aumento do tamanho de partículas (ALMALIK et al., 2017; IBRAHIM et al., 2019; VARSHOSAZ; ESKANDARI; TABBAKHIAN, 2012).

Logo, considerando a elevada concentração de carboidratos nas amostras de polpa de acerola analisadas, os resultados se mostram em acordo com a literatura, pois foi possível observar que quanto maior o seu Brix, menor foi o tamanho dos seus respectivos líofilos quando analisamos os tamanhos médios de partículas apresentados na tabela 10.

Mesmo que ainda seja necessário realizar os estudos com as amostras de Brix 50,5° contendo o bagaço, os líofilos obtidos das amostras de Brix 21,61° demonstraram os melhores resultados de tamanho de partícula quando comparado com os líofilos resultantes das amostras de Brix 7,12°. Por associação, quanto menor o tamanho da partícula, maior a área de superfície e, conseqüentemente, melhor a sua capacidade de reidratação quando administrada pensando no seu uso no setor farmacêutico e alimentício (MARQUES; PRADO; FREIRE, 2007).

Nesse sentido, foram excluídas as amostras do Brix 7,12° secas em 24 horas pela ineficiência de tais parâmetros na obtenção do melhor líofilo da acerola.

#### **4.2.3 Influência do tempo de secagem e do método de congelamento no teor de umidade residual e atividade de água (aw) presente nos líofilos**

Os resultados do rendimento do processo de liofilização, os valores de teor de umidade obtidos por perda por dessecação em estufa e termogravimetria (TG) e os valores de atividade de água das respectivas amostras liofilizadas estão na tabela 11. Os gráficos de TG dos liófilos constam na figura 13.

Analisando os dados de rendimento de secagem das melhores amostras de até aqui, todas tiveram rendimento acima de 12%. Há uma relação direta entre o teor de sólidos totais (solúveis e suspensos) e o valor de rendimento da secagem da amostra. Os liófilos resultantes do rendimento da secagem das polpas de Brix 21,61°, por terem uma maior quantidade de sólidos solúveis em sua matriz, apresentaram valores superiores quando comparado com os valores do rendimento dos liófilos obtidos das amostras de Brix 7,12°. Comparando os liófilos resultantes das amostras de Brix 21,61° com os das amostras de 50,5° contendo 20% do bagaço, os valores de rendimento não diferem entre eles de forma substancial. No quesito rendimento, os liófilos 48B21U, 48B21N, 48B50U20% e 48B50U20% se destacam (tabela 11).

Na análise de umidade das amostras possíveis de serem feitas até o presente momento do estudo, os valores obtidos em estufa foram um pouco superiores aos aferidos pela termogravimetria. Esse fato tem uma possível ligação com o ambiente fechado e a atmosfera de  $N_{n(g)}$  da análise com o equipamento da termogravimetria, resultando provavelmente nos valores reais de teor de umidade das amostras, visto que no decorrer do processo de perda por dessecação em estufa, os liófilos são mais expostos ao ambiente e, sendo amostras bastante higroscópicas, podem ter adsorvido água na realização total do processo (BRASIL, 2019; SILVA, 2010).

Na análise dos resultados, todos os valores, independentemente do método de análise utilizado, obtiveram valores inferiores aos 10% de teor obtidos por Menezes e colaboradores (2009). Mesmo que a alta concentração de sólidos solúveis seja um fator que estimule a amorfização da amostra e, portanto, contribua para uma maior susceptibilidade ao aumento rápido de seu teor de umidade, os valores estão de acordo com os achados da literatura, mesmo estando acima dos 5% de teor de umidade preconizados em legislação para frutas liofilizadas, com a exceção do valor obtido por TG para o liófilo obtido a partir da amostra de Brix 50,5° e desidratada em 48 horas, segundo os dados da tabela 13 (BRASIL, 1978; DUARTE et al., 2017).

A  $a_w$  é uma das características físico-química de grande importância na indústria alimentícia para análise de estabilidade e armazenamento de pós, pois auxilia a prever a vida útil e a estabilidade microbiológica dos produtos (SUBBIAH; BLANK; MORISON, 2020). Para os dados de atividade de água também realizada nas amostras que possibilitaram a

maceração após o seu respectivo ciclo de liofilização, as amostras secas em 48 horas (48B7U, 48B7R, 48B21U, 48B21N, 48B50U20% e 48B50N20%), com exceção da amostra 48B21R (líofilo obtido da polpa de Brix 7,12° que foi pré-tratada com refrigeração e seca com tempo de 48 horas de processo de sublimação), apresentaram uma aW média de 0,27, resultado menor que o valor obtido para o teste com a melhor amostra obtida no ciclo de 24 horas, a 24B21U, apresentando valor de 0,35, o mesmo valor de aW da amostra 48B21R, sendo essa a que provavelmente mais adsorveu umidade antes da análise, podendo ser a amostra mais higroscópica entre as analisadas da polpa de Brix 21,61°.

Os resultados da aW com relação a concentração de sólidos solúveis demonstram um valor médio maior com o aumento do Brix, como pode ser observado na tabela 13. O valor da aW de todas as amostras liofilizadas não excederam 0,60, valor considerado como o limiar para o crescimento de leveduras osmofílicas e gatilho para as reações de deterioração (MORAES et al., 2017; TAPPI et al., 2019).

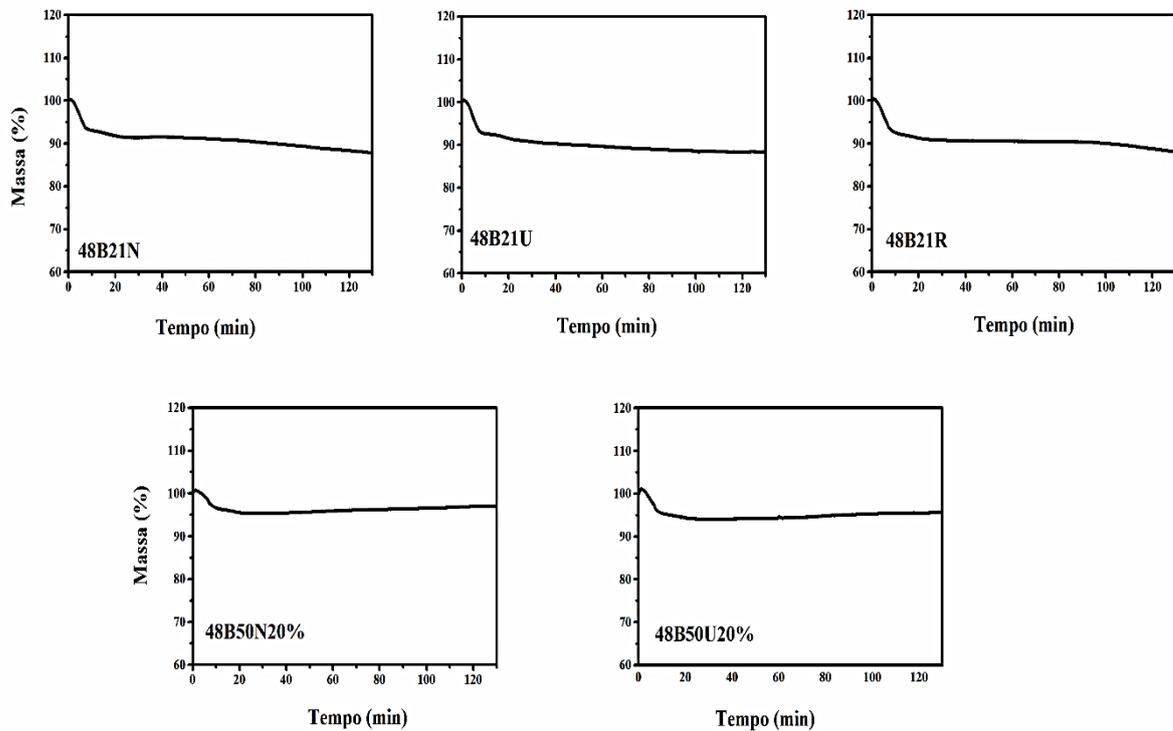
**Tabela 11:** Resultado do rendimento da secagem por liofilização, dos valores de teor de umidade obtidos em estufa e termogravimetria (TG) e da atividade de água dos melhores líofilos.

Código da amostra	Rendimento de secagem	Teor de umidade		Atividade de água (aW)
		TG	Estufa	
24B21U	18,58%	*	*	0,35
48B7U	13,40%	*	*	0,23
48B7R	38,33%	*	*	0,28
48B21U	50,38%	7,23%	8,56%	0,28
48B21N	42,25%	6,85%	8,34%	0,24
48B21R	38,33%	7,68%	9,36%	0,35
48B50U20%	46,41%	5,69%	7,87%	0,26
48B50N20%	43,85%	4,46%	8,21%	0,28

Legenda: \*necessitam serem realizadas.

Fonte: Autoria própria.

**Figura 13:** Curvas da termogravimetria isotérmica para análise do teor de umidade dos liófilos.



Fonte: Autoria própria.

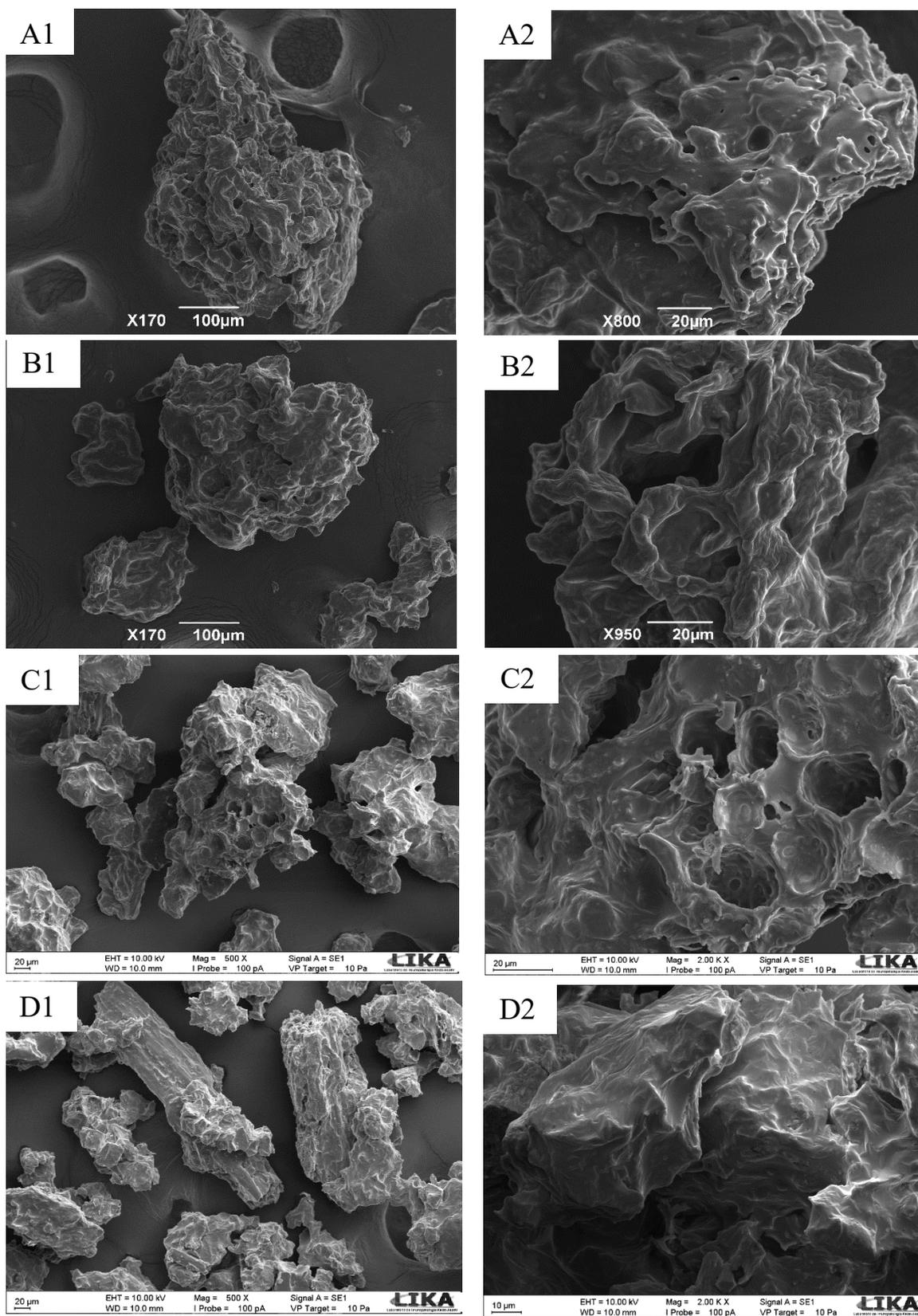
Levando em consideração os valores do rendimento de obtenção de cada liófilo e pela necessidade de um processo mais enxuto, os liófilos que obtiveram rendimentos acima de 40% foram: 48B21N, 48B21U, 48B50U20% e 48B50U20%. Todos esses liófilos apresentaram valores de teor de umidade e  $a_w$  condizentes com a literatura e aceitáveis em termos de estabilidade (MORAES et al., 2017; TAPPI et al., 2019).

O pré-tratamento com o congelamento com temperaturas mais altas (refrigeração) não é tão eficiente e apenas prolonga o processo, sendo sugestivo de ser utilizada apenas para o armazenamento das amostras. Por fim, o baixo rendimento dos liófilos de Brix 7,12° (48B7U e 48B7R) e suas características físicas difíceis de serem manipulados pela leveza e alta higroscopicidade, torna tais amostras não tão interessantes para o processamento e desenvolvimento farmacotécnico. Portanto, para complementação das caracterizações com os melhores liófilos (48B21U, 48B21N, 48B50U20% e 48B50U20%), os mesmos foram analisados por MEV e doseados em termos de vitamina C nas sessões a seguir.

#### 4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura

As fotomicrografias dos liófilos de código 48B21U, 48B21N, 48B50U20% e 48B50U20% são apresentadas na figura 14.

**Figura 14:** Fotomicrografias dos escolhidos melhores liófilos da acerola.



Legenda: **A1:** 48B21U com aumento de 170X; **A2:** 48B21U com aumento de 800X; **B1:** 48B21N com aumento de 170X; **B2:** 48B21N com aumento de 950X; **C1:** 48B50N20% com aumento de 500X; **C2:** 48B50N20% com aumento de 2000X; **D1:** 48B50U20% com aumento de 500X; **D2:** 48B50U20% com aumento de 2000X.

Fonte: Autoria própria.

A microestrutura da superfície de ambas as amostras (48B21U, 48B21N) são bem parecidas, apresentando as partículas com o formato irregular bem característico de partículas amorfas devido a concentração de monossacarídeos na matriz do material. Detalhadamente, as partículas possuem o aspecto disforme, não possuindo um padrão morfológico característico. É notável também a presença de fissuras, rachaduras e a porosidade característica de pós liofilizados (MORAES et al., 2017; RIBEIRO, 2014).

As mesmas características são observadas com os líofilos (48B50U20% e 48B50U20%), contudo, essas partículas liofilizadas possuem um pouco mais de regularidade, provavelmente atribuída pela presença das partículas do bagaço da acerola. As características morfológicas das partículas do bagaço da acerola são discutidas na seção 4.3.4.

#### 4.2.5 Prospecção fitoquímica (Triagem fitoquímica)

Para a prospecção fitoquímica foi escolhido um dos líofilos para o teste em CCD visando a confirmação do perfil de metabólitos secundários da acerola. Na tabela 12, os resultados permitiram verificar a presença de flavonoides, derivados cinâmicos, terpenos, esteroides, saponinas e a presença qualitativa de açúcares. Esse perfil de metabólitos é corroborado em vários estudos na literatura que abordam a fitofarmacologia da acerola (BELWAL et al., 2018; PRAKASH; BASKARSAN, 2018). Isso legitima a liofilização como um método seguro para a secagem da acerola sem afetar seus principais metabólitos secundários. A figura 15 apresenta as imagens das corridas cromatográficas nas placas de CCD realizadas para a amostra do líofilo da acerola.

**Tabela 12:** Análises cromatográficas, por CCD, do líofilo da acerola.

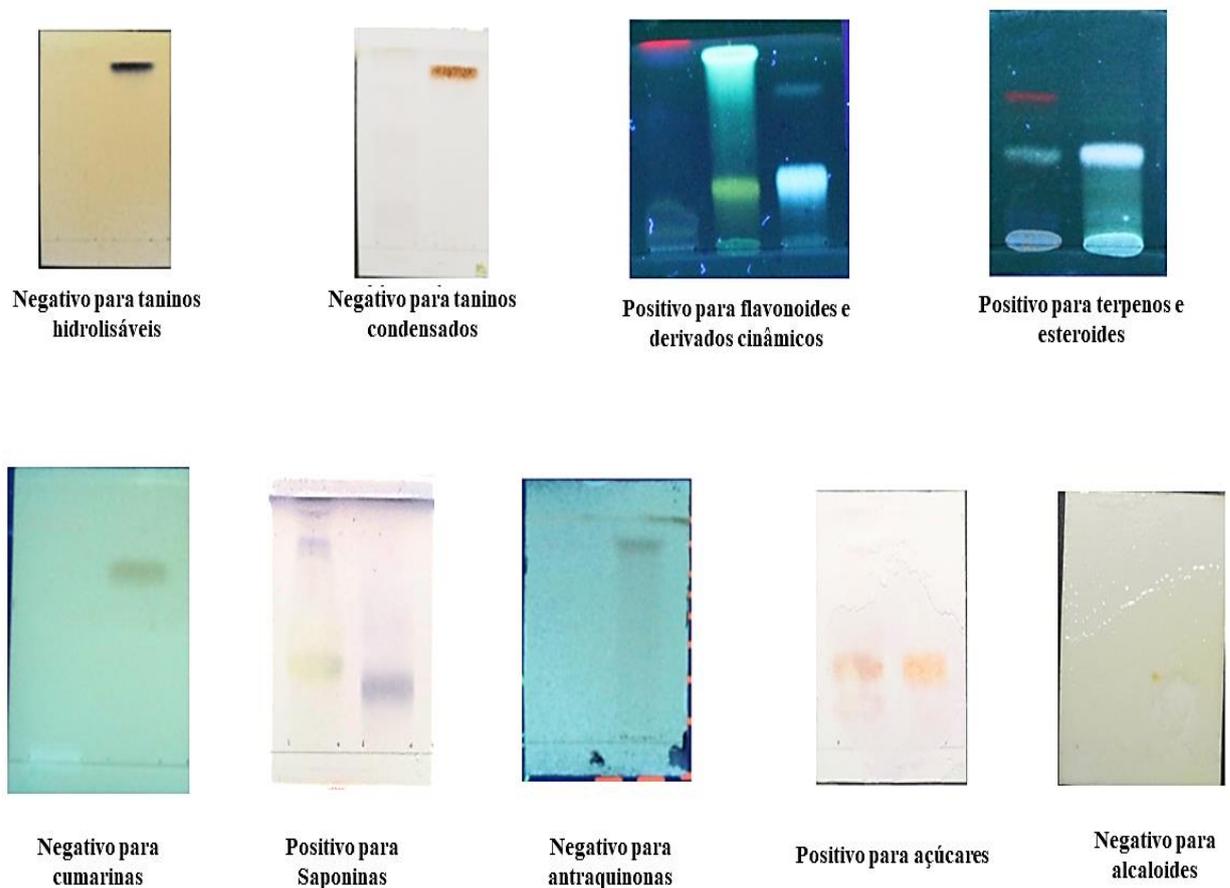
Metabólitos	Resultado/Rf
Taninos hidrolisáveis	-
Taninos condensados	-

<b>Flavonoides</b>	+/0,10
<b>Derivados cinâmicos</b>	+/0,70
<b>Terpenos e Esteroides</b>	+/0,23
<b>Cumarinas</b>	-
<b>Saponinas</b>	+0,40
<b>Antraquinonas</b>	-
<b>Açúcares</b>	+/0,30
<b>Alcaloides</b>	-

(+) Presença  
 (-) Ausência

Fonte: Autoria própria.

**Figura 15:** Representação das placas de CCD após a eluição para análise da presença dos metabólitos pesquisados para o líofilo da acerola.



Fonte: Autoria própria.

A existência de diversos compostos fenólicos e flavonoides atribui à acerola ações anti-inflamatória e antioxidante de forma complementar com a vitamina C, principal biomarcador dessa fruta. O próprio ácido cafeico e a quercetina são amplamente relatados como constituintes da acerola que inibem várias enzimas importantes do metabolismo de macronutrientes, atribuindo à acerola o uso como uma alternativa antidiabética, antidislipidêmica e hepatoprotetora. Diversas antocianinas e terpenoides também presentes na amostra do líofilo são os responsáveis por atribuírem a atividade antineoplásica para o fruto da acerola (BELWAL et al., 2018; HANAMURA; UCHIDA; AOKI, 2008). A alta quantidade de açúcares é qualitativamente comprovada por uma forte banda no padrão CCD de açúcares redutores analisados.

Para a melhor confirmação da presença de saponinas, testes futuros são necessários, como o método alternativo de formação de espumas (LIMA, 2019).

Os taninos hidrolisáveis e condensados, cumarinas, alcaloides e antraquinonas não foram detectados com a metodologia da técnica da CCD. Entretanto, a presença de metabólitos secundários, em uma amostra, varia de acordo as condições climáticas registradas no local de cultivo e período de coleta da acerola, verifica-se a prospecção fitoquímica sazonal como sendo alvo de alguns estudos presentes na literatura (HANAMURA; UCHIDA; AOKI, 2008; LIMA; KAPLAN; CRUZ, 2012).

Dessa forma, não se pode tomar como verdade absoluta que os metabólitos ausentes no amostra do líofilo da acerola, de acordo com a CCD realizada, não fazem realmente parte da sua composição química, mas que podem estar em uma quantidade abaixo do limite necessário para que ocorra qualquer tipo de reação de identificação, sendo necessária métodos de detecção mais eficazes e robustos (CAVALARO; OLIVEIRA, 2018).

#### **4.2.6 Teor de vitamina C**

No doseamento da vitamina C nos líofilos 48B21U, 48B21N, 48B50U20% e 48B50U20%, os valores obtidos de teor de vitamina C nas amostras de 48B21 foi de 16.584 mgAA/100g (miligramas de ácido ascórbico por 100 gramas de líofilo) com aumento do teor de vitamina C de aproximadamente 8 vezes em relação a polpa de Brix 21,61° *in natura*.

Já o teor nos líofilos 48B50 com 20% do bagaço da acerola foi de 20.944 mgAA/100g apresentando o dobro do valor de vitamina C da polpa de Brix 50,5 *in natura*. Esses valores

foram bem próximos ao teor de 17,3 g/100g de vitamina C contidos no pó da acerola obtido mediante secagem do suco da fruta por *Spray Drying* no estudo de Santos (2014).

Levando em consideração os valores quantificados, o consumo de 0,3 g do liófilo 48B21 e de 0,22 g do liófilo do 48B50 com 20% do bagaço, respectivamente, fornecerá 100% da quantidade com a quantidade diária de vitamina C recomendada para adultos que é de 45mg por dia, e portanto esses produtos podem ser considerados altamente nutritivos, uma vez que são excelentes fontes de vitamina C (BRASIL, 2005a; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2018). De fato, a secagem por liofilização portanto representa um método com grande potencial para ser utilizado como um enriquecedor vitamínico.

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BAGAÇO DA ACEROLA

A figura 16 apresenta o produto pulverizado do resíduo da acerola (bagaço) após seu processamento (moagem e padronização do tamanho da partícula). O pó tem coloração amarronzada, pouco denso, brilhoso e com aspecto semelhante às farinhas obtidas pela pulverização de bagaços e caroços de frutas.

**Figura 16:** Pó do bagaço da acerola obtido pelo uso do moinho de facas.



Fonte: Autoria própria.

Os resultados das determinações analíticas do pó do bagaço da acerola estão contidos na tabela 13.

**Tabela 13:** Composição centesimal do pó do bagaço da acerola.

<b>Caracterizações</b>	<b>Resultados</b>
<b>pH</b>	3,37* ± 0,01
<b>Cinzas</b>	1,97* ± 0,01
<b>Acidez titulável (%Ácido cítrico)</b>	0,97* ± 0,01
<b>Atividade de água</b>	0,64* ± 0,005
<b>Molhabilidade</b>	0,76* ± 0,07
<b>Higroscopicidade</b>	3,34* ± 0,05
<b>Solubilidade</b>	3,93* ± 0,19

\*Média das três repetições ± desvio padrão

Fonte: Autoria própria.

Com relação ao pH da amostra, o valor obtido é caracteristicamente ácido, sendo semelhante ao pH da polpa da acerola. O valor do pH abaixo de 4,5 inibe o crescimento de microorganismos, o que caracteriza o bagaço do caroço de acerola de difícil proliferação bacteriana. (AQUINO et al, 2010). Os resultados obtidos nesse estudo foram semelhantes aos verificados por Aquino e colaboradores (2010) que obtiveram um resultado de 3,32, e Nóbrega (2012) que encontrou valores entre 3,53 a 3,73.

A quantidade de cinzas do bagaço apresentou o valor de 1,97%, resultado um pouco superior ao encontrado por Aguiar e colaboradores (2010), que obtiveram um valor de 0,44% de cinzas no pó de semente de acerola. A quantidade de cinzas presente no bagaço ainda apresentou com valores semelhantes ao farelo de subproduto de manga (2,08%), abaixo ao da farinha desidratada de semente jaca (3,09%) e acima do de semente de maracujá (1,08%) (AGUIAR et al, 2010). A determinação de cinzas totais é realizada a fim de estabelecer a quantidade de substâncias residuais não voláteis, obtidas por incineração. As cinzas representam a soma de material inorgânico integrante da espécie com as substâncias aderentes de origem terrosa. Dentro dos constituintes ou contaminantes obtidos por incineração,

destacam-se carbonos, cloretos, e diversos tipos de óxidos. Essa informação pode detectar ou prevenir adulteração ou contaminação por impurezas inorgânicas não voláteis que podem estar presentes (LIMA, 2019).

A atividade de água aferida para a amostra do bagaço moído está um pouco ao preconizado como ideal (0,60) para evitar contaminação microbiológica. Valores acima de 0,60 de aW pode ser um gatilho para a perda da estabilidade da amostra (MORAES et al., 2017; TAPPI et al., 2019). Sendo necessário o cuidado com a exposição ambiental da amostra ou sua possível secagem para reduzir o seu valor de atividade de água, tornando a amostra mais segura.

A acidez titulável apresentou o valor de 0,97 % em termos de ácido cítrico, valor considerado baixo quando comparado com a polpa de acerola, isso se deve ao fato de os ácidos orgânicos estarem mais presentes nas polpas dos frutos (BRAGA et al, 2011). Aquino e colaboradores (2010), obteve o valor de 8,13 mg/100 de acidez para farinha de resíduo de acerola, resultado maior que os observado nesse estudo. Os valores de acidez variam com o estado de maturação do fruto da acerola (BRAGA et al, 2011).

Pelos resultados da tabela 12, o pó do bagaço da acerola é considerado não higroscópico por ter esse valor abaixo dos 10% de ganho de umidade na massa da amostra (MORAES et al., 2017). Esse fato é muito importante para incluir o bagaço da acerola como um adjuvante farmacotécnico com o intuito de reduzir um pouco a higroscopicidade da polpa da acerola e contribuir para a estabilidade. Esse fato foi observado para a amostra da polpa de Brix 50,5° que foi acrescida com uma porcentagem em massa do bagaço antes de passar pelo processo da liofilização. A molhabilidade e solubilidade do pó apresentam valores muito baixos, muito provavelmente pela presença de fibras insolúveis no bagaço da acerola, fato que desacelera a reidratação desse tipo de pó (AQUINO et al, 2010).

#### **4.3.1 Determinação comparativa do teor de umidade**

O parâmetro umidade é tão importante e complementar à atividade de água tanto para caracterizar a estabilidade de produtos alimentícios, como suas propriedades de fluidez (GARCIA; PEREIRA; DIAS, 2012; SILVA, 2010). Os valores comparativos de teor de umidade obtidos pela perda por dessecação em estufa e termogravimetria (TG) são apresentados na tabela 14 e a curva isotérmica detalhada é ilustrada na figura 17.

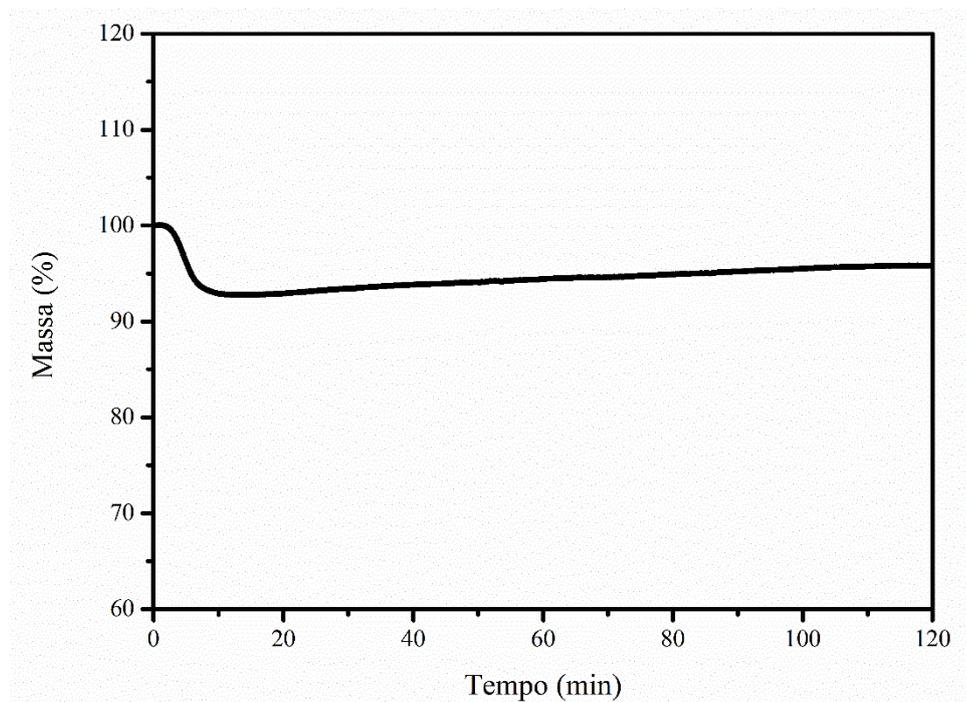
**Tabela 14:** Valores de teor de umidade obtidos por perda por dessecação utilizando estufa e termogravimetria (TG).

Método	Perda por dessecação
Estufa	8,12* ± 0,37
TG	7,060

\*Média das três repetições ± desvio padrão

Fonte: Autoria própria.

**Figura 17:** Curva isotérmica obtida por termogravimetria (TG) para análise do teor de umidade do pó da acerola.



Fonte: Autoria própria.

Os dados de teor de umidade corroboram com as informações analisados para as polpas. De fato, a termogravimetria apresenta valores menores pelas considerações de processo e pelo ambiente inerte e fechado do equipamento. Entretanto, os dois valores de teor de umidade obtidos de métodos diferentes estão abaixo do valor limite estipulado recomendado por legislação para farinhas, que é de 15%, o que caracteriza o bagaço da acerola como produto de baixa umidade e maior durabilidade durante o armazenamento (AGUIAR et al., 2010; BRASIL, 2005b).

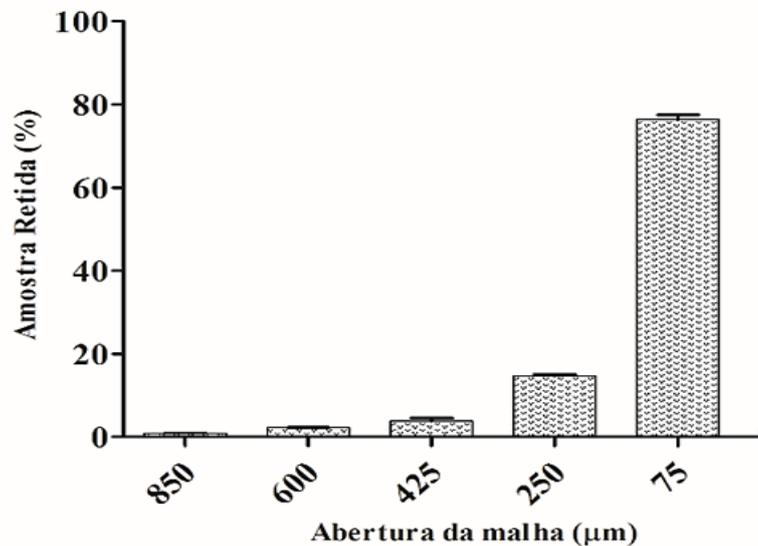
#### 4.3.2 Distribuição granulométrica e tamanho de partícula por granulometria à laser

Em relação a granulometria, apresentada pelos valores de retenção na tabela 15 e pelo gráfico de distribuição da figura 18, observou-se que 76% do pó do bagaço da acerola retida ficou retida na malha de abertura nominal de 75  $\mu\text{m}$  (200 mesh), o que classifica o pó como finíssimo pela classificação da Farmacopéia Brasileira 6<sup>a</sup> (BRASIL, 2019). Marques e colaboradores (2013) observaram em seu estudo que a farinha de acerola obtida realmente tem uma característica de pó fino e leve. A distribuição uniforme entre as partículas é importante para assegurar as propriedades físico-químicas dos produtos farmacêuticos, além de garantir que o princípio ativo estará espalhado de forma que os limites da janela terapêutica sejam respeitados. O tamanho de partícula pode influenciar na fluidez, compressibilidade, facilidade de mistura, uniformidade entre os componentes e taxa de dissolução (BELÉM, 2017).

**Tabela 15:** Porcentagens de retenção de do pó da acerola.

Abertura do tamis	% retida
850 $\mu\text{m}$	0,93%
600 $\mu\text{m}$	2,24%
425 $\mu\text{m}$	3,87%
250 $\mu\text{m}$	14,70%
75 $\mu\text{m}$	76,38%

Fonte: Autoria própria.

**Figura 18:** Distribuição granulométrica do pó da acerola.

Fonte: Autoria própria.

### 4.3.3 Comportamento reológico

Na determinação das propriedades reológicas do pó do bagaço da acerola, quase todos os métodos indiretos referenciados nas bases mundiais das farmacopeias foram aferidos, para que, de forma complementar a propriedade de fluxo do pó fosse completamente caracterizada. Todos os dados das análises indiretas do fluxo do pó do bagaço da acerola constam na tabela 19.

Para o ângulo de repouso, que tem como objetivo verificar a facilidade ou dificuldade com que um determinado pó tem de fluir através de um orifício para uma superfície livre, o resultado encontrado para a tangente formada entre a altura e o raio do pó escoado foi de um ângulo de 43,9° contando com um tempo de escoamento infinito, ou seja, acima de 10 segundos. Valores acima de 30° e 40° sugerem que a amostra do pó do bagaço da acerola apresenta uma baixa propriedade de fluxo. Determinações insatisfatórias desses fatores são esperadas ao se tratar de pós semelhantes as farinhas alimentícias com características de pó fino e compacto (AGUIAR et al., 2010).

Os valores das densidades aparente e compactada, do fator de Hausner e índice de compressibilidade indicam que o pó do bagaço da acerola possui fluxo muito pobre,

representando condições de atrito, coesividade e de interação da umidade existentes no pó. (LIMA, 2019). Sendo assim, todos os métodos apontam a baixa propriedade de fluidez da amostra do pó do bagaço da acerola. Dessa forma, há a necessidade de excipientes para incrementação de suas propriedades de fluxo como diluentes e lubrificantes.

**Tabela 19:** Análise do comportamento reológico do pó do bagaço da acerola.

<b>Propriedades</b>	<b>Resultados</b>
<b>Densidade aparente</b>	0,19* ± 0,001
<b>Densidade compactada</b>	0,28* ± 0,001
<b>Índice de Carr</b>	32,66 * ± 0,01
<b>Fator de Hausner</b>	1,4* ± 0,01
<b>Ângulo de repouso</b>	43,9* ± 1,42
<b>Tempo de escoamento</b>	Infinito

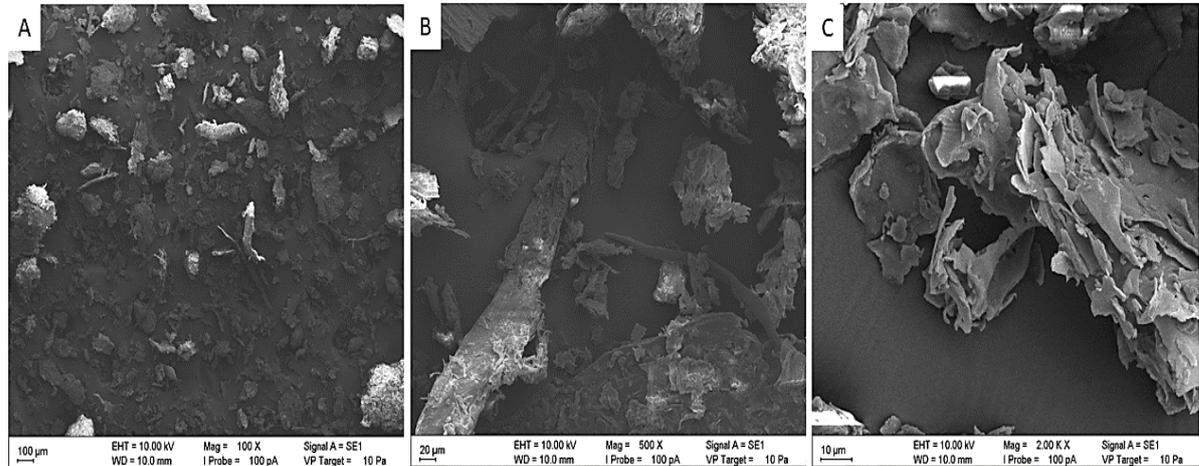
\*Média das três repetições ± desvio padrão

Fonte: Autoria própria.

#### 4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Na fotomicrografia da amostra do bagaço da acerola (figura 19), as partículas apresentaram um formato um pouco mais regular que as partículas dos líofilos. Assim a informação de que o pouco de regularidade observada nas amostras 48B50U20% e 48B50N20% (figura 14 da seção 4.2.4) seria atribuída pela presença do bagaço da acerola ganha um reforço com esse resultado. O aspecto granular também observado é característico do processo de moagem utilizado para a obtenção do pó. Essas características morfológicas observadas na figura 19 foram bem semelhantes com a morfologia do bagaço da acerola observada em MEV por Moraes e colaboradores (2017).

**Figura 19:** Microscopia eletrônica de varredura do pó do bagaço da acerola.



Legenda – (A): ampliado 100x; (B): ampliado 100x; (C): ampliado 2000x.

Fonte: Autoria própria.

#### 4.4 DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DOS COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS OBTIDOS

Para a obtenção do comprimido mastigável, foi utilizado o líofilo obtido a partir da polpa de Brix 21,61° com congelamento prévio em ultrafreezer (48B21U) que apresentou as melhores características físico-químicas e de processamento para o mérito do desenvolvimento da forma sólida. Pensando em um processo de obtenção do líofilo de forma mais enxuta e simples com menos etapas de processamento para uma possível transposição de escala para a indústria, a obtenção do líofilo a partir da polpa com Brix 21,61° requer menos etapas de processo que a obtenção do líofilo a partir da polpa de Brix 50,5°, principalmente porque a polpa de 50,5°, que se apresenta como um xarope, tem dificuldades de congelamento seja por qual método for escolhido, como demonstrado nesse estudo. O seu congelamento só foi possível com a inclusão do caroço no pré-tratamento.

A escolha do líofilo obtido da amostra de Brix 21,61° com pré-tratamento de congelamento em ultrafreezer em detrimento da mesma amostra previamente tratada com congelamento criogênico, ocorreu pelo fato de que o pré-tratamento criogênico exige a necessidade da adição do custo da compra do nitrogênio líquido e o seu processamento para o

congelamento da polpa, o que pode representar desvantagens de padronização de processo e de custo.

Os comprimidos mastigáveis obtidos por compressão direta estão apresentados na figura 20. Os comprimidos apresentaram uma forma arredondada com superfície lisa e com coloração amarronzada com machas marrons mais escuras. Pela reação de escurecimento não enzimático característico para o ácido ascórbico devido ao calor proveniente do processo de compressão, sendo necessário futuros cuidados com a força de compressão e o tipo de equipamento utilizado (ALVIN et al., 2016; TAN et al., 2019). Os comprimidos também tinham o aspecto borrachudo, característica atribuída pela característica porosa e higroscópica do liófilo da acerola.

O liófilo com as melhores características físico-químicas foi utilizado como insumo ativo para a obtenção da formulação do comprimido mastigável.

**Figura 20:** Comprimidos mastigáveis contendo o liófilo da polpa da acerola e seu resíduo agroindustrial.



Fonte: Autoria própria.

Ao analisarmos esses protótipos sólidos, cada comprimido contém em média 0,850g de peso total, sendo o teor de vitamina C de aproximadamente 140 mg (77%) de vitamina C por comprimido. A ingestão de um comprimido representa o fornecimento do triplo da quantidade diária recomendada de vitamina C aqui no Brasil, o que legitima o comprimido mastigável como uma potencial formulação altamente nutritiva na administração da vitamina C (BRASIL, 2005a).

A inclusão do bagaço da acerola representa um avanço para o reaproveitamento industrial da totalidade da acerola. Com as caracterizações devidamente realizadas, o pó do bagaço da acerola pode apresentar-se como um adjuvante estabilizante para a formulação sólida

mastigável, devido principalmente por sua baixa higroscopicidade inerente, tornando a formulação por inteira menos higroscópica e mais estável (MORAES et al., 2017).

A presença do manitol, além de ser um diluente amplamente utilizado em formulações sólidas mastigáveis, também funciona como edulcorante estimulando a salivação. A salivação torna-se necessária para a diluição, orodispersão, tamponamento e mascaramento do sabor ácido representado pela presença do líofilo da acerola, esse fator pode induzir uma maior adesão do paciente à formulação proposta (GIAFFERIS et al., 2017; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017).

O estearato de magnésio é um ótimo agente lubrificante utilizado em formulações sólidas, normalmente nas concentrações entre 0,25 e 5%, sendo um adjuvante muito relevante na produção de comprimidos. Contudo, a intenção do estearato de magnésio também se estende por sua baixa higroscopicidade e utilização como ativador das propriedades de fluxo de pós muito higroscópicos, como é o caso do líofilo da acerola. O dióxido de silício coloidal também apresenta a funcionalidade de ativação do fluxo de pós com baixa propriedades reológicas, além de também desempenhar sua função como desintegrante e por também ser um material de baixa higroscopicidade. O uso desses excipientes multifuncionais promove a obtenção de uma formulação mais enxuta e otimizada com redução de custo e facilitação de transposição de escala (AULTON, 2016b, PESSANHA et al., 2012; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017).

Na tabela 26, estão os resultados encontrados dos controles de qualidade físico-químico realizados com os comprimidos mastigáveis de acerola liofilizada.

**Tabela 17:** Análise físico-química preliminar dos comprimidos mastigáveis.

<b>Parâmetros</b>	<b>Resultados</b>	<b>Especificações</b>
<b>Peso médio (g)</b>	0,843±0,01	±5%
<b>Dureza (kg/cm<sup>3</sup>)</b>	2	-
<b>Friabilidade</b>	+0,001	< 1,5%

Legenda: + = ganho de peso

Fonte: Autoria própria.

A Farmacopeia Brasileira (2019) preconiza que o limite de variação aceitável para comprimidos com peso médio acima de 250 mg ou mais é de ± 5,0%, onde não se pode tolerar mais que duas unidades fora dos limites especificados. Os comprimidos mastigáveis de acerola

liofilizada apresentaram peso médio em torno de 0,843 g obedecendo aos limites estabelecidos, garantindo assim a homogeneidade por unidade do lote. Como já apresentado anteriormente, os comprimidos apresentavam um aspecto muito macio, o que explica o baixo valor de dureza obtido dos comprimidos de 2 kgf/cm<sup>3</sup>. Entretanto, uma baixa dureza representa uma menor força necessária para a mastigação do comprimido (WALTHER, et al., 2014).

Em relação ao teste de friabilidade, após o período de 100 rotações, nenhum comprimido pode apresentou-se quebradiço, com rachaduras ou partições. Não houve perda de peso dos comprimidos após as rotações, mas um leve ganho de peso como apresentado na tabela X, muito provavelmente pela higroscopicidade do comprimido devido à presença do líofilo da polpa. Portanto, será necessário um armazenamento hermético para limitar ao máximo a interação do comprimido com o ambiente (AULTON, 2016b).

É relevante ainda citar que os comprimidos mastigáveis podem ser isentos dos testes de desintegração devido ao fato que a desintegração ocorre pelo ato da mastigação (BRASIL, 2019; WALTHER, et al., 2014).

**CONCLUSÃO**

## 5 CONCLUSÃO

De fato, a concentração de sólidos solúveis, o tipo de congelamento e o tempo de secagem são fatores que diretamente afetam as características dos líofilos obtidos a partir da polpa da acerola. As várias caracterizações realizadas com todos os líofilos derivados de diferentes tipos de polpas e que passaram por diferentes ciclos de liofilização resultou na escolha dos líofilos: aqueles obtidos a partir da polpa de Brix 21,61° que foi congelada em ultrafreezer e nitrogênio e liofilizadas no período de 48 horas e os líofilos obtidos da polpa de Brix 50,5 obtidos nas mesmas condições, mas com o acréscimo de 20% do bagaço. Esses líofilos foram selecionados porque apresentaram melhor desempenho em termos de estabilidade, rendimento, baixo teor de umidade e atividade de água.

A originalidade desse estudo também abrange a oportunidade do reaproveitamento agroindustrial do bagaço da acerola na intenção da totalidade do uso do fruto da acerola. Esse fato otimiza a de logística reversa para a indústria, além da possibilidade da provável aplicação do bagaço da acerola como um adjuvante que atribui melhores características de estabilidade e menor higroscopicidade aos líofilos.

O processo de liofilização se mostrou um excelente método para a desidratação da polpa da acerola mantendo sua constituição nutricional intactas. O alto teor de vitamina C presente nos líofilos e nos comprimidos mastigáveis obtidos legitima seu potencial para a aplicação no desenvolvimento de nas formas nutracêuticas sólidas visando uma alternativa suplementar para a administração da vitamina C.

A perspectiva é que a continuidade deste estudo resulte na otimização da secagem da polpa da acerola incluindo o bagaço como agente encapsulante e estabilizante, assim como na otimização também para formulação sólida obtida, com diferentes delineamentos experimentais em busca de uma formulação mais robustas e estável.

# **PERSPECTIVAS**

## 6 PERSPECTIVAS

- Realizar o doseamento da polpa in natura e dos líofilos por espectrofotometria (UV-visível);
- Secar as demais amostras de polpas com a inclusão do bagaço da acerola;
- Realizar a análise de umidade por isotermas de dessorção;
- Finalizar as caracterizações físico-químicas dos líofilos para corroborar a escolha dos melhores parâmetros da secagem por liofilização;
- Fazer as caracterizações nutricionais das polpas e dos líofilos;
- Otimizar o desenvolvimento do comprimido mastigável através de um planejamento qualitativo fatorial;
- Finalizar as análises de controle de qualidade do comprimido mastigável.

**REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICA**

## REFERÊNCIAS

- ABE-MATSUMOTO, L. T.; SAMPAIO, G. R.; BASTOS, D. H. M. Do the labels of vitamin A, C, and E supplements reflect actual vitamin content in commercial supplements? **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 72, p. 141–149, 2018.
- AGUIAR, T. M.; RODRIGUES, F. S.; SANTOS, E. R.; SABAA-SRUR, A. U. Caracterização química e avaliação do valor nutritivo de sementes de acerola. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 91-102, 2010.
- AL-ACHI, A. Tablets: A Brief Overview. **Journal of Pharmacy Practice and Pharmaceutical Sciences**, v. 1, p. 50-53, 2019.
- ALDERBORN, G. Comprimidos e compactação. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016. p.484-526.
- ALLEN JR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. Delineamento de formas farmacêuticas: considerações farmacêuticas e de formulação. In: ALLEN JR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9.ed. Porto Alegre: Artmed; 2013. p. 93-145.
- ALMALIK, A.; ALRADWAN, I.; KALAM, M. A.; ALSHAMSAN, A. Effect of cryoprotection on particle size stability and preservation of chitosan nanoparticles with and without hyaluronate or alginate coating. **Saudi Pharm J**, v. 25, n. 6, p. 861-867, 2017.
- ALVES, G. M. C.; ROLIM, L.A; ROLIM NETO, P. J.; LEITE, A. C. L.; BRONDANI, D. J. Purificação e caracterização da  $\beta$ -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, p. 413-416, 2008.
- ALVIM, I. D.; STEIN, M. A.; KOURY, I. P. DANTAS, F. B. H. CRUZ, C. L. C. V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 689-694, 2016.
- AOAC – ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 17<sup>th</sup> ed. Washington, 2002.
- AQUINO, A. C. M. S.; MÓES, R. S.; LEÃO, K. M. M.; FIGUEIREDO, A. V. D.; CASTRO, A. A. Avaliação físico-química e aceitação sensorial de biscoitos tipo cookies elaborados com farinha de resíduos de acerola. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 2010; v. 69, n. 3, p. 379-386, 2010.
- ARAÚJO, A. D. A.; COELHO, R. M. D.; FONTES, C. P. M. L.; SILVA, A. R. A.; COSTA, J. M. C.; RODRIGUES, S. Production and spouted bed drying of acerola juice containing oligosaccharides. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 565-571, 2015.
- ASSIS, A. S.; FERNANDES, F. P.; MARTINS, A. B. G; OLIVEIRA, O. M. M. F. Acerola: importance, culture condotions, production and biochemical aspects. **Fruits**, v. 62, n. 2, p.93-101, 2008.

AULTON, M. E. Secagem. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016a. p.468-483.

AULTON, M. E. Fluxo de pós. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016b. p.179-190.

BARBOSA, S. J. **Qualidade de suco em pó de mistura de frutas obtido por spray drying**. 106f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual Montes Claros, Janaúba, 2010.

BATRA, N.; SHARMA, H.; SINGH, J. A Review on Antihypertensive Chewable Tablets for Geriatrics. **International Journal of Trend in Scientific Research and Development**, v. 3, n. 4, p. 1503-1508, 2019.

BRAGA, A. C. D.; LIMA, M. S.; AZEVEDO, L. C. A.; RAMOS, M. E. C. Caracterização e obtenção de farinha do resíduo gerado no processo industrial de clarificação do suco de acerola. **Revista Semiárido De Visu**, v. 1, n. 2, p. 126-133, 2011.

BELEM, M. E. A. **Desenvolvimento de uma metodologia para a determinação da granulometria de excipientes da olanzapina utilizando espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) e calibração multivariada**. Monografia (Bacharel em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

BELWAL, T.; DEVKOTA, H. P.; HASSAN, H. A.; AHLUWALIA, S.; RAMADA; FAWZY, M.; MOCAN, A.; ATANASOV, A. G. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 74, p. 99-106, 2018.

BONDOC, M. M.; BRĂTUCU, G. Theoretical research on forest fruit conservation by lyophilization. **Agricultural Food Engineering**, v. 10, n. 2, p. 71-78, 2017.

BRANDÃO M. L. M.; ROSAS, C. O; BRICIO, S. M. L.; COSTA, J. C. B.; MEDEIROS, V. M.; WARNKEN, M. B.; DE LA CRUZ, H. C. M.; NOBREGA, A. W. Avaliação de crioprotetores na produção de material de referência para enumeração de coliformes em leite em pó a ser utilizado em ensaio de proficiência. **Rev Inst Adolfo Lutz.**, v. 72, n. 2, p. 124-130, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – CNNPA nº 12, de 24 de julho de 1978**. Dispõe sobre normas técnicas especiais. 2016.

BRASIL. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2005a.

BRASIL. **Resolução RDC nº 263, de setembro de 2005**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2005b.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 37, de 8 de outubro de 2018 (Anexo II)**. Dispõe sobre os parâmetros analíticos e quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade de polpa de fruta. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância, **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed., 2019.

BRAZ, R.; WOLF, L. G.; LOPES, G. C.; MELLO, J. C. P. Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian Market. **Rev. bras. Farmacogn.**, v. 22, n. 5, P. 1111-1118, 2012.

CAI, Y.Z., CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **Journal of food science**, v.65, n.6, p. 1248-1252, 2000.

CAPOZZI, L. C.; PISANO, R. Looking inside the ‘black box’: Freezing engineering to ensure the quality of freeze-dried biopharmaceuticals. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 129, p. 58–65, 2018.

CARR, R.L. Evaluating Flow Properties of Solids. **Chemical Engineering Journal**, v. 72, p. 163-168, 1965.

CARR, A. C.; LYKKESFELDT, J. Discrepancies in global vitamin C recommendations: a review of RDA criteria and underlying health perspectives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, 1–14, 2020.

CAVALARO, V. OLIVEIRA, C. R. Fitoquímica: triagem em extratos de plantas com abordagens cromatográficas “estado da arte”. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 1, n. 3, 2018.

CHANG, S. K.; ISMAIL, A.; DAUD, Z. A. M. Ascorbic Acid: Properties, Determination and Uses. In: **Encyclopedia of Food and Health**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2015. p. 275–284.

CILAS. **Fraunhofer theory**. 2016. Disponível em: <[http://www.particle-size.com/cilas\\_fraunhofer\\_mie.htm](http://www.particle-size.com/cilas_fraunhofer_mie.htm)>. Acesso em: 11 de setembro de 2020.

CIURZYNSKA, A; LENART, A. Freeze-Drying - Application in Food Processing and Biotechnology - A Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 61, n. 3, 2011.

COTRUȚ, R.; BĂDULESCU, L. UPLC Rapid Quantification of Ascorbic Acid in Several Fruits and Vegetables Extracted Using Different Solvents. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 10, p. 160–166, 2016.

DAVIS, J. L.; PARIS, H. L.; BEALS, J. W.; BINNS, S. E.; GIORDANO, G. R.; SCALZO, R. L.; SCHWEDER, M. M.; BLAIR, E.; BELL, C. Liposomal-encapsulated Ascorbic Acid: Influence on Vitamin C Bioavailability and Capacity to Protect against Ischemia–Reperfusion Injury. **Nutrition and Metabolic Insights**, v. 9, p. 25-30, 2016.

DELVA, L.; SCHNEIDER, R. N. Acerola (*Malpighia emarginata* DC): Production, Postharvest Handling, Nutrition, and Biological Activity. **Food Reviews International**, v. 29, n. 2, p. 107-126, 2013.

DILLE, M. J.; HATTREM, M. N.; DRAGET, K. I. Soft, chewable gelatin-based pharmaceutical oral formulations: a technical approach. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 23, n. 5, p. 504-511, 2018.

DUARTE, E. L.; Carlos, L. A.; Rodrigues, C. G.; Andrade, R. M.; Oliveira, K. G. Influência da liofilização sobre os carotenoides de frutos do cerrado e comportamento higroscópico dos produtos liofilizados. **Perspectivas online: biologia e saúde**, v. 23, n. 7, p. 22-33, 2017.

ECK, P. Nutrigenomics of vitamin C absorption and transport. **Current Opinion in Food Science**, v. 20, p. 100–104, 2018.

EMBRAPA. Coeficientes de produção e rentabilidade da exploração. *In*: EMBRAPA. **Acerola**. 3.ed. Brasília: Produção Embrapa de Informação; 2012. p. 131-136.

FARAONI, A. S.; RAMOS, A. M.; GUEDES, D. B.; PINTO, M. R. M. R. Propriedades reológicas de sucos mistos de manga, goiaba e acerola adicionados de fitoquímicos. **Braz. J. Food Technol**, v. 16, n.1, p. 21-28, 2013.

FERNANDES, T. N.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; RENO, M. J. Relação entre o comportamento reológico e a dinâmica do congelamento e descongelamento de polpa de morango adicionada de sacarose e pectina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 1, p. 188-204, 2010.

FREITAS, C. A. S.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. S. Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **R. Bras. Agrociência**, v. 12, n. 4, p. 395-400, 2006.

FREITAS, A. B.; ENDRES, C. M.; MARTIN, D.; DAL CASTEL, A. P. Ação dos crioprotetores glicose, trealose e quitosana na manutenção da viabilidade de células de *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* após liofilização. **Cienc. anim. bras.**, v. 21, p. 464-474, 2020.

FUKUSHIMA, A. R.; Corrêa, L. T.; Muniz, G. A.; Carafinii, P. H. L.; Verganii, A. B.; Ferreira, K. A. Análise multifatorial de métodos volumétricos para a quantificação de ácido ascórbico em comprimidos efervescentes. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 11, n. 3, p. 54–73, 2018.

GAIKWAD, S. S.; KSHIRSAGAR, S. J. Review on Tablet in Tablet techniques. **Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2020.

GANGURDE, J. S.; ERANDE, K. B.; SHEVALE, L. M. Freeze drying: a review. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 3, p. 592-603, 2019.

GARCIA, A. Q. R.; PEREIRA, T. A. B.; DIAS, I. L. T. Estudo de propriedade de fluxo no desenvolvimento de paracetamol pó veiculado em sachê. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 4, p. 469-475, 2012.

GOMES, P. M. A.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Caracterização e isotermas de adsorção de umidade da polpa de Acerola em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n. 2, p. 157-165, 2002.

GÓMEZ RUIZ, B.; ROUX, S.; COURTOIS, F.; BONAZZI, C. Spectrophotometric method for fast quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in simple matrix for kinetics measurements. **Food Chemistry**, v. 211, p. 583–589, 2016.

GOSHIMA, H.; DO, G.; NAKAGAWA, K. Impact of Ice Morphology on Design Space of Pharmaceutical Freeze-Drying. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 6, p. 1920–1933, 2016.

GUGULOTHU, D.; DESAI, P.; PANDHARIPANDE, P.; PATRAVALE, V. Freeze drying: exploring potential in development of orodispersible tablets of sumatriptan succinate. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 41, n. 3, p. 398-505, 2015.

HANAMURA, T.; UCHIDA, E.; AOKI, H. Changes of the composition in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit in relation to cultivar, growing region and maturity. **Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 10, 2008.

HERBIG, A. L.; RENARD, C. M. G. C. Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. **Food Chemistry**, v. 220, p. 444–451, 2017.

HONMANE, S. M.; DANGE, Y. D.; OSMANI, R. A. M.; JADGE, D. R. General Considerations of Design and Development of Dosage Forms: Pre-formulation Review. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 11, n. 3, p. 479-488, 2017.

IBGE, 2017. Disponível em:

<[https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo\\_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76215](https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76215)> Acessado: 27/05/2020.

IBRAHIM, A. H.; ROSQVIST, E.; SMÅTT, J-H.; IBRAHIM, H. M.; ISMAEL, H. R.; AFOUNA, M. I.; SAMY, A. M.; ROSENHOLM, J. M. Formulation and optimization of lyophilized nanosuspension tablets to improve the physicochemical properties and provide immediate release of silymarin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 563, p. 217–227, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico – químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JÚNIOR, M. E. S. **Polpa mista de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) e ceriguela (*Spondias purpurea* L.) obtida por diferentes métodos de secagem**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2018.

KASPER, J. C.; FRIESS, W. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 78, n. 2, p. 248-263, 2011.

KAWASAKI, H; SHIMANOUCI, T; KIMURA, Y. Recent Development of Optimization of Lyophilization Process. **Journal of Chemistry**, v. 2019, p. 1-14, 2019.

KIM, S. J.; CHO, Y. K.; LEE, C.; KIM, M. H.; LEE, Y. Real-time direct electrochemical sensing of ascorbic acid over rat liver tissues using RuO<sub>2</sub> nanowires on electrospun TiO<sub>2</sub> nanofibers. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 77, p. 1144–1152, 2016.

KODAMA, T.; TAKEUCHI, M.; WAKIYAMA, N.; TERADA, K. Optimization of secondary drying condition for desired residual water content in a lyophilized product using a novel simulation program for pharmaceutical lyophilization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 469, p. 59–66, 2014.

KUU, W. Y.; HARDWICK, L. M.; AKERS, M. J. Rapid determination of dry layer mass transfer resistance for various pharmaceutical formulations during primary drying using product temperature profiles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 313, p. 99–113, 2006.

LIMA, S. J. M. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas à base do extrato seco da casca do caule de *Libidia férrea* (Mart. Ex. Tul.) como alternativa no tratamento do diabetes mellitus**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Recife, 2019.

LANGLOIS, P. L.; LAMONTAGNE, F. Vitamin C for the critically ill: Is the evidence strong enough? **Nutrition**, v. 60, p. 185–190, 2019.

MACIEL, M. I. C.; MÉLO, E.; LIMA, V.; SOUZA, K. A.; SILVA, W. Caracterização físico-química de frutos de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, V. 30, n. 4, p. 865-869, 2010.

MANDL, J.; SZARKA, U.; BÁNHEGYI, G. Vitamin C: update on physiology and pharmacology. **Br J Pharmacol.**, v. 157, n. 7, p. 1097–1110, 2009.

MARQUES, L. G.; FERREIRA, M. C.; FREIRE, J. T. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 46, n. 5, p. 451-457, 2007.

MARQUES, O. C. P. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de *Uncaria tomentosa* com atividade antioxidante**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade de Coimbra, Coimbra, 2008.

MARQUES, T. R. **Aproveitamento tecnológico de resíduos de acerola: farinhas e barras de cereais**. 2013. Dissertação (Mestrado em Agroquímica), Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2013.

MARQUES, L. G.; FERREIRA, M. C.; FREIRE, J. T. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p. 451–457, 2007.

MARQUES, E. C.; COSTA, S. R. R. Estudo da liofilização pela engenharia de produto no processamento industrial de alimentos. **Acta tecnológica**, v. 10, n. 1, p. 44-52, 2015.

- MENEZES, A. R. V.; JÚNIOR, A. S.; CRUZ, H. L. C.; ARAUJO, D. R.; SAMPAIO, D. D. Estudo comparativo do pó da acerola verde (*Malpighia emarginata* D.C) obtido em estufa por circulação de ar e por liofilização. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2009.
- MOHAMMED, M. Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) In: YHAIA, E.M. **Postharvest Biology and technology of Tropical Subtropical Fruits**. 48 ed. 2011.p. 27 - 47.
- MOHAN, S. Compression Physics of Pharmaceutical Powders: A Review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 6, p. 1580-1592, 2012.
- MORAES, F. P.; GONÇALVES, A. C. MIGUEL, T. B. V.; BORGES, K. C. Freeze Dried Acerola (*Malpighia emarginata*) Pulp and Pomace: Physicochemical Attributes, Phytochemical Content and Stability during Storage. **Journal of Food Industry**, v. 1, n. 1, 2017.
- MORAES, F. P.; COSTA, R. C.; MORAIS, C. L. M.; MEDEIROS, F. G. M.; FERNANDES, T. R. N.; HOSKIN, R. T.; LIMA, K. M. G. Estimation of ascorbic acid in intact acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit by NIRS and chemometric analysis. **Horticulturae**, v. 5, n. 1, p. 1–10, 2019.
- MOURA, H.F. C. et al. Acerola – *Malpighia emarginata*. In: RODRIGUES, S; EBENEZER, S.; BRITO, E. **Exotic fruits reference guide**. 1 ed. 2018. p. 7-14.
- MUSSER, R.S.; LEMOS, M.A.; LIMA, V.L.A.G.; MELO, E.A.; LEDERMAN, I.E; SANTOS, V.F. Características físico-químicas de acerola do banco ativo de germoplasma em Pernambuco. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 24, n. 4, p. 556-561, 2004.
- NIREESHA, G. R.; DIVYA, L.; SOWMYA, C.; VENKATESHAN, N.; BABU, M. N.; LAVAKUMAR, V. Lyophilization/Freeze Drying - An Review. **International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 87-98, 2013.
- NOBREGA, A. M. M. **Secagem do resíduo de acerola (*Malpighia emarginata* DC.): Estudo do processo e avaliação do impacto sobre o produto final**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, Natal, 2012)
- OHORI, R.; YAMASHITA, C. Effects of temperature ramp rate during the primary drying process on the properties of amorphous-based lyophilized cake, Part 1: Cake characterization, collapse temperature and drying behavior. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 39, p. 131-139, 2017.
- OLIVEIRA, R. G.; GODOY, H. T.; PRADO, M. A. Otimização de metodologia colorimétrica para a determinação de ácido ascórbico em geleias de frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 1, p. 244-249, 2010.
- OLIVEIRA, G. S.; COSTA, J. M. C.; AFONSO, M. R. A. Caracterização e comportamento higroscópico do pó da polpa de cajá liofilizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.10, p.1059–1064, 2014.

OYINLOYE, T. M.; YOON, W. B. Effect of Freeze-Drying on Quality and Grinding Process of Food Produce: A Review. **Processes**, v. 8, n. 354, 2020.

PADAYATTY, S. J.; LEVINE, M. Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. **Oral Diseases**, v. 22, n. 6, p. 463–493, 2016.

PEREIRA, C. T. M.; SILVA, C. R. P.; LIMA, A.; PEREIRA, D. M.; COSTA, N. C.; CAVALCANTE-NETO, A. A. Obtenção, caracterização físico-química e avaliação da capacidade antioxidante in vitro da farinha de resíduo de acerola (*Malpighia glabra* L.). **Acta Tecnológica**, v. 8, n. 2, p. 50-56, 2013.

PESSANHA, A. F. V.; ROLIM, L. A.; PEIXOTO, M. S.; SILVA, R. M. F.; ROLIM NETO, P. J. Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas. **Rev. Bras. Farm.**, v. 93, n. 2, p. 136-145, 2012.

PIKAL, M.J.; TANG, X.C. Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. **Pharmaceutical Research**, v. 21, n. 2, 2004.

PRAKASH, A.; BASKARAN, R. Acerola a untapped funcional superfruit: reiew on latest frontiers. **J. food sci technol.** v. 55, n. 9, p. 3373 – 3884, 2018.

QIN, X.; LIU, J.; DU, Y.; LI, Y.; ZHENG, L.; CHEN, G.; CAO, Y. Different doses of vitamin C supplementation enhances the Th1 immune response to early *Plasmodium yoelii* 17XL infection in BALB/c mice. **International Immunopharmacology**, v. 70, n. 77, p. 387–395, 2019.

RAUTAMO, M.; KVARNSTRÖM, K.; SIVÉN, M.; AIRAKSINEN, M.; LAHDENNE, P.; SANDLER, N. A Focus Group Study about Oral Drug Administration Practices at Hospital Wards—Aspects to Consider in Drug Development of Age-Appropriate Formulations for Children. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 109, p. 1-13, 2020.

REIS, D. S.; NETO, A. F.; FERRAZ, A. V.; FREITAS, S. T. Produção e estabilidade de conservação de farinha de acerola desidratada em diferentes temperaturas. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 20, p. 1-7, 2017.

RENU; DAHIYA, J.; JALWAL, P.; SINGH, B. Chewable Tablets: A Comprehensive Review. **The Pharma Innovation Journal**, v. 4, n. 5, p. 100-105, 2015.

RESENDE, J. T. V.; MORALES, R. G. F. M.; MARCOS V FARIA, M. V.; RISSINI, A. L. L.; CAMARGO, L. K. P.; CAMARGO, C. K. Produtividade e teor de sólidos solúveis de frutos de cultivares de morangueiro em ambiente protegido. **Hortic. bras.**, v. 28, n. 2, p. 185-189, 2010.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P. NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v. 254, n. 15, p. 281-291, 2018.

RIBEIRO, L. C. **Produção de acerola em pó: métodos de secagem e avaliação da estabilidade.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2014.

RIGHETTO, A. M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2014.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. R. Acerola. *In*: RODRIGUES, M.G.V.; DIAS, M.S.C. **Cultivo tropical de fruteiras.** Informe Agropecuário: Belo Horizonte, v.32, n.264, p.17-25, 2011.

RODRIGUES, B. K. M. **Liofilização da polpa da manga (*Mangifera Indica L.*) c.v. Tommy Atkins: condições de secagem e estabilidade.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2017.

SANTOS, L. M. L. **Produção de pó de acerola verde via atomização *spray drying* para elaboração de sorvete enriquecido com vitamina C.** 2014. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal do Ceará, Ceará, 2014.

SAWAN M. S. Review on taste masking approaches in oral pharmaceutical dosage forms. **Lebda Medical Journal**, v. 1, p. 33-43, 2015.

SEBRAE, Brasil, 2016. Disponível em:

<<https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-acerola,db7b9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD>> Acesso em: 27/05/2020.

SHARIFF MPHARM, Z. B.; DAHMASH, D. T.; KIRBY, D. J.; MISSAGHI, S. M.; RAJABI-SIAHBOOMI, A.; MAIDMENT, I. D. Does the Formulation of Oral Solid Dosage Forms Affect Acceptance and Adherence in Older Patients? A Mixed Methods Systematic Review. **JAMDA**, v. x, p. 1-9, 2020.

SHEKESKEY, P. J.; COOK, W. G.; CABLE, C. G. **Handbook of Pharmaceutical Excipients.** 6.ed. London: Pharmaceutical Press; 2017. p.559-602.

SHINOHARA, N.K.S. Maria Celene de Almeda: a mãe da Acerola (*Malpighia Glabra L.*) no Brasil. **Revista Eletrônica “Diálogos Acadêmicos**, v. 09, n. 2, p. 49-63, 2015.

SCHUBERT, H. Processing and properties of instant powdered foods. *In*: LINKO, P. et al. **Food Process Engineering.** London: Elsevier Applied Science Publishers Ltd, p. 657-684, 1980.

SKROVANKOVA, S.; MLCEK, J.; SOCHOR, J.; BARON, M.; KYNICKY, J.; JURIKOVA, T. Determination of Ascorbic Acid by Electrochemical Techniques and other Methods. **International of Electrochemical Science**, v. 10, n. 3, p. 2421–2431, 2015.

SILVA, R. M. F. ***Peperomia pellucida L. (H.B.K.): Obtenção tecnológica de formas farmacêuticas.*** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pernambuco, Pernambuco, 2010.

SILVA, A. T. A.; OLIVEIRA, S. K. M.; GABRIEL OLIVO LOCATELLI, G. O. L.; LUNA FINKLER, C. L. L. Eficiência de Diferentes Crioprotetores, Empregados Na Liofilização, Para Preservação de Bactérias Lácticas e Leveduras em Kefir. **Blucher Food Science Proceedings**, v. 1, n.1, 2014.

SILVA, P. C. A.; JORGETTO, A. O.; WONDRACEK, M. H. P.; GALERA, R. M. SCHNEIDER, J. F.; SAEKI, M. J.; PEDROSA, V. A.; ZARA, L. F.; CASTRO, G. R. Properties, characteristics and application of grinded *Malpighia emarginata* seeds in the removal of toxic metals from water. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 6, p. 50-56, 2018.

SMIRNOFF, N. Ascorbic acid metabolism and functions: A comparison of plants and mammals. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 122, p. 116–129, 2018.

SOPYAN, I.; SANTI, N. M. W. S.; BERLIAN, A. V.; MEILINA, N. E.; FAUZA, Q.; APRIYANDI, R. A. A review: Pharmaceutical excipients of solid dosage forms and characterizations. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 2, p. 1472-1480, 2020.

SOUSA, T. P. A. **Caracterização parcial da peroxidase dos frutos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.), clones de okinawa e emepa em três estágios de maturação.** 2010. Dissertação ((Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraíba, Paraíba, João Pessoa, 2010.

SOUSA, M. S. B. *et al.* Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciênc. agrotec.**, v. 35, n. 3, p. 554-559, 2011.

SPETH, J. D. “Neanderthals, vitamin C, and scurvy.” **Quaternary International**, v. 500, p. 172–184, 2018.

SPÍNOLA, V.; LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; CASTILHO, P. C. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1369, p. 2–17, 2014.

SUBBIAH, B.; BLANK, U. K. M.; MORISON, K. R. A review, analysis and extension of water activity data of sugars and model honey solutions. **Food Chemistry**, v. 326, p. 126981, 2020.

SUBRAMANIAN, V. S.; SABUI, S.; MARCHANT, J. S.; SAID, H. M. MicroRNA-103a regulates sodium-dependent vitamin C transporter-1 expression in intestinal epithelial cells. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 65, p. 46–53, 2019.

SUN-WATERHOUSE, D.; WADHWA, S. S. Industry-Relevant Approaches for Minimising the Bitterness of Bioactive Compounds in Functional Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 607–627, 2013.

TAN, S.; HADINOTO, K.; EBRAHIMI, A.; LANGRISH, T. Fabrication of novel casein gel with controlled release property via acidification, spray drying and tableting approach. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 177 p. 329–337, 2019.

TAPPI, S.; LAGHIA, L.; DETTORI, A.; PIANA, L.; RAGNIA, L.; ROCCULI, P.; Investigation of water state during induced crystallization of honey. **Food Chemistry**, v. 294, p. 260–266, 2019.

TSINONTIDES, S. C.; RAJNIAK, P.; PHAM, D.; HUNKE, W. A.; PLACEK, J.; REYNOLDS, S. D. Freeze drying - principles and practice for successful scale-up to manufacturing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 280, p. 1–16, 2004.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION (USPC). **United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 43-NF 38)**. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2020.

VAN DER MERWE, J.; STEENEKAMP, J.; STEYN, D.; HAMMAN, J. The Role of Functional Excipients in Solid Oral Dosage Forms to Overcome Poor Drug Dissolution and Bioavailability. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 393, p. 1-17, 2020.

VARSHOSAZ, J.; ESKANDARI, S.; TABBAKHIAN, M. Freeze-drying of nanostructure lipid carriers by different carbohydrate polymers used as cryoprotectants. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1157–1163, 2012.

VASTA, J. D.; RAINES, R. T. Human Collagen Prolyl 4-Hydroxylase Is Activated by Ligands for Its Iron Center. **Biochemistry**, v. 55, n. 23, p. 3224–3233, 2016.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195-198, 2000.

WAGNER, H. AND BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2nd Edition, Springer-Verlag, Berlin, 1996.

WALTHER, F. M.; ALLAN, M. J.; ROEPKE, R. K. A.; NUERNBERGER, M. C. Segurança dos comprimidos mastigáveis de fluralaner (Bravecto™), um novo medicamento antiparasitário sistêmico após a administração oral. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 87, p. 1-8, 2014.

WHEELER, G.; ISHIKAWA, T.; PORNSAKSIT, V.; SMIRNOFF, N. Evolution of alternative biosynthetic pathways for vitamin C following plastid acquisition in photosynthetic eukaryotes. **ELife**, v. 4, p. 1–25, 2015.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. C. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 1, p. 92-94, 2003.

ZHU, T.; MOUSSA, E. M.; WITTING, M.; ZHOU, D.; SINHA, K.; HIRTH, M.; GASTENS, M.; SHANG, S.; NERE, N.; SOMASHEKARE, S. C.; ALEXEENKO, A.; JAMEEL, F. Predictive models of lyophilization process for development, scale-up/tech transfer and manufacturing. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 128, p. 363–378, 2018.

# APÊNDICES

## APÊNDICES

**APÊNDICE A** - Comprovante de cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

**APÊNDICE B** - Comprovante de aprovação de projeto de iniciação científica (PIBIC) aprovado pela PROPESQ/UFPE

**APÊNDICE C** - Resumo simples submetido no I Congresso Internacional de Produtos Naturais

## APÊNDICE A - Comprovante de cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado



**Ministério do Meio Ambiente**  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**  
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO  
**Comprovante de Cadastro de Acesso**  
**Cadastro nº A136EFD**

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A136EFD**  
 Usuário: **Universidade Federal de Pernambuco**  
 CPF/CNPJ: **24.134.488/0001-08**  
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

### Espécie

**Malpighia emarginata**

Título da Atividade: **Desenvolvimento de comprimidos mastigáveis de acerola orgânica liofilizada**

### Equipe

<b>Rosali Maria Ferreira da Silva</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco</b>
<b>Pedro José Rolim Neto</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco</b>
<b>Débora Dolores Souza da Silva Nascimento</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco</b>
<b>Emerson de Oliveira Silva</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco</b>
<b>Lilian Cunha Cardoso</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco</b>
<b>Larissa Araújo Rolim</b>	<b>Universidade do Vale do São Francisco</b>
<b>Alessandra Cristina Silva Barros</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco</b>

Data do Cadastro: **04/11/2018 14:58:27**  
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 14:58 de 04/11/2018.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
 ASSOCIADO - **SISGEN**

**APÊNDICE B** - Comprovante de aprovação de projeto de iniciação científica (PIBIC)  
aprovado pela PROPESQ/UFPE

Termo de Compromisso Bolsista cota Propesqi – Pibic  
2020/2021

Prezado professor PEDRO JOSE ROLIM NETO

Sua aluna MARIA LAVINYA ARRUDA DA ROCHA

Foi classificada como bolsista da cota Propesqi do  
Pibic 2020/2021.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
(PIBIC/UFPE/CNPQ)  
EDITAL PROPESQ Nº 08/2020

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA SECAGEM DE POLPA DE ACEROLA POR  
LIOFILIZAÇÃO E SPRAY DRYER**

**Discente:** Maria Lavinya Arruda da Rocha  
**Orientador:** Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

APÊNDICE C - Resumo simples submetido no I Congresso Internacional de Produtos Naturais

